

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-graduação em Biotecnologia



Dissertação de Mestrado

**OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS CONTENDO FUCOIDANA E ZEÍNA POR
*ELECTROSPINNING***

Amanda Fonseca Leitzke

Pelotas, 2024

Amanda Fonseca Leitzke

**OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS CONTENDO FUCOIDANA E ZEÍNA POR
*ELECTROSPINNING***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira

Co-orientadora: Dra. Francieli Moro Stefanello

Co-orientadora: Dra. Cristina Jansen-Alves

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

L533o Leitzke, Amanda Fonseca

Obtenção de nanofibras contendo fucoidana e zeína
por *electrospinning* [recurso eletrônico] / Amanda Fonseca Leitzke ;
Claudio Martin Pereira de Pereira, orientador ; Francieli Moro Stefanello,
Cristina Jansen-Alves, coorientadoras. — Pelotas, 2024.
105 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade
Federal de Pelotas, 2024.

1. Alga marrom. 2. *Electrospinning*. 3. Nanofibras. 4. Fucoidana. 5.
Zeína. I. Pereira, Claudio Martin Pereira de, orient. II. Stefanello, Francieli
Moro, coorient. III. Jansen-Alves, Cristina, coorient. IV. Título.

CDD 589.45

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Amanda Fonseca Leitzke

OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS CONTENDO FUCOIDANA E ZEÍNA POR
ELECTROSPINNING

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 05/09/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira (Orientador). Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Profa. Dra. Francieli Moro Stefanello. Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Dra. Bruna Silveira Pacheco. Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Resumo

LEITZKE, Amanda Fonseca. **OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS CONTENDO FUCOIDANA E ZEÍNA POR ELECTROSPINNING.** Orientador: Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira. Defesa (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

As nanofibras ganham destaque por suas propriedades exclusivas que permitem sua aplicação em diferentes áreas. Entre as técnicas de produção, a eletrofiação (*electrospinning*) sobressai por seu baixo custo, simplicidade e eficiência no controle da estrutura e diâmetro das fibras, possibilitando a fabricação de nanofibras a partir de materiais variados, como polissacarídeos de macroalgas e proteínas naturais. As fucoidanas, uma classe de polissacarídeos sulfatados extraídos de algas marrons, têm atraído atenção em pesquisas biotecnológicas devido às suas diversas bioatividades. Já a zeína, uma proteína natural e não tóxica, é reconhecida como um polímero seguro e proveniente de recursos renováveis. Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver nanofibras a partir de soluções poliméricas de zeína com adição de fucoidana extraída de algas marrons por meio da técnica de *electrospinning*. A fucoidana foi extraída da macroalga *Durvillaea antarctica*, porém, devido ao baixo rendimento obtido, a extração não se mostrou viável para a produção de nanofibras em larga escala. Para superar essa limitação, optou-se pela utilização de fucoidana comercial adquirida da Sigma-Aldrich®, o que possibilitou a continuidade da produção de nanofibras. Dessa forma, foram produzidas soluções poliméricas de zeína a 30% (p/v) e fucoidana (0%, 25%, 30% e 35%), cujas condutividade elétrica e viscosidade foram analisadas. A maior viscosidade foi observada nas soluções com 25% e 30% de fucoidana, enquanto a condutividade elétrica apresentou pouca variação com o aumento da concentração de fucoidana. A análise de ângulo de contato indicou uma característica hidrofílica das soluções poliméricas, o que pode ser favorável à adesão e proliferação celular. Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier das nanofibras revelaram bandas características dos materiais utilizados, e a análise de difração de raios-X demonstrou o caráter amorfó das fibras. A análise de distribuição de tamanho demonstrou tamanho médio de 540 ± 130 , enquanto que as nanofibras incorporadas com 25% e 30% fucoidana apresentaram formato de fita com tamanho médio de 234 ± 54 nm e 276 ± 54 nm. Com isso, foi possível observar que a adição de fucoidana na solução polimérica melhorou significativamente a morfologia das fibras, alterando-as para o formato de fita, assim como reduziu o diâmetro das mesmas, quando comparadas com a fibra controle, o que torna o estudo de sua atividade biológica viável, tendo em vista que já foi relatado na literatura que fibras menores que 100 nm apresentaram respostas tóxicas *in vitro*. Nos ensaios de citotoxicidade com brometo de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio e sulforrodamina B, as nanofibras não apresentaram efeitos citotóxicos sobre células saudáveis de fibroblastos de camundongos nos tempos analisados de 24h e 48h, o que viabiliza a continuidade dos estudos biológicos, como a aplicação como adesivo cicatrizante para pele em etapas futuras deste projeto.

Palavras-chave: Alga marrom; *Electrospinning*; Nanofibras; Fucoidana; Zeína.

Abstract

LEITZKE, Amanda Fonseca. **OBTENTION OF NANOFIBERS CONTAINING FUCOIDAN AND ZEIN BY ELECTROSPINNING.** Advisor: Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira. Defense (Master's degree) - Postgraduate Program in Biotechnology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

Nanofibers are gaining prominence due to their unique properties which allow them to be applied in different areas. Among the production techniques, electrospinning stands out for its low cost, simplicity and efficiency in controlling the structure and diameter of the fibers, making it possible to manufacture nanofibers from a variety of materials, such as polysaccharides from macroalgae and natural proteins. Fucoidans, a class of sulphated polysaccharides extracted from brown algae, have attracted attention in biotechnological research due to their diverse bioactivities. Zein, a natural and non-toxic protein, is recognized as a safe polymer and comes from renewable resources. Considering the above, the aim of this work was to develop nanofibers from polymeric solutions of zein with the addition of fucoidan extracted from brown algae using the electrospinning technique. Fucoidan was extracted from the macroalga *Durvillaea antarctica*, but due to the low yield obtained, the extraction was not viable for the production of nanofibers on a large scale. To overcome this limitation, we opted to use commercial fucoidan purchased from Sigma-Aldrich®, which allowed us to continue producing nanofibers. Polymeric solutions of Zein at 30% (w/v) and fucoidan (0%, 25%, 30% and 35%) were produced and their electrical conductivity and viscosity were analyzed. The highest viscosity was observed in solutions with 25% and 30% fucoidan, while electrical conductivity showed little variation with increasing fucoidan concentration. Contact angle analysis indicated a hydrophilic characteristic of the polymer solutions, which may be favorable to cell adhesion and proliferation. The Fourier transform infrared spectra of the nanofibers revealed bands characteristic of the materials used, and the X-ray diffraction analysis showed the amorphous nature of the fibers. The size distribution analysis showed an average size of 540 ± 130 , while the nanofibers incorporated with 25% and 30% fucoidan had a ribbon shape with an average size of 234 ± 54 nm and 276 ± 54 nm. It was therefore possible to observe that the addition of fucoidan to the polymer solution significantly improved the morphology of the fibers, changing them to a ribbon shape, as well as reducing their diameter, when compared to the control fiber, which makes the study of its biological activity viable, given that it has already been reported in the literature that fibers smaller than 100 nm showed toxic responses in vitro. In the cytotoxicity tests with 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide and sulforhodamine B, the nanofibers showed no cytotoxic effects on healthy mouse fibroblast cells at the analyzed times of 24h and 48h, which makes it feasible to continue the biological studies, such as the application as a healing adhesive for skin in future stages of this project.

Key-words: Brown algae; *Electrospinning*; Nanofibers; Fucoidan; Zein.

Sumário

1. Introdução	11
2. Revisão da literatura	13
2.1 Nanofibras.....	13
2.2 <i>Electrospinning</i>	14
2.3 Macroalgas marrons	16
2.4 Propriedades biológicas das fucoidanas	19
2.5 Zeína	23
3. Metodologia	25
3.1 Obtenção da biomassa de <i>Durvillaea Antarctica</i>	25
3.2 Análises físico-químicas da macroalga <i>Durvillaea antarctica</i>.....	26
3.2.1 Teor de proteína	26
3.2.2 Quantificação de carboidratos.....	26
3.2.3 Cinzas.....	27
3.2.4 Determinação de fibras.....	27
3.2.5 Determinação de umidade	27
3.3 Espectrometria de absorção e emissão atômica	28
3.4 Análise de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).....	28
3.4.1 Extração dos ácidos graxos	28
3.4.2 Derivatização com BF₃.....	29
3.4.3 Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas CG-EM.....	29
3.5 Extração de fucoidanas	30
3.6 Obtenção de nanofibras pela técnica de <i>Electrospinning</i>.....	30
3.6.1 Preparo das soluções	30
3.6.2 Caracterização das soluções poliméricas	31

3.6.3 Obtenção de fibras por <i>electrospinning</i>	31
3.7 Técnicas de caracterização	32
3.7.1 Ângulo de contato	32
3.7.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	32
3.7.3 Difração de Raio-X	33
3.7.4 Morfologia e distribuição de tamanho	33
3.7.5 Análise estatística	33
3.8 Citotoxicidade	33
3.8.1 Cultura celular	33
3.8.2 Tratamento celular	34
3.8.3 Ensaio de viabilidade celular	34
3.8.4 Ensaio de proliferação celular	34
3.8.5 Análise estatística	35
4. Resultados e discussão	35
4.1 Análise físico-química da <i>Durvillaea antarctica</i>	35
4.2 Extração da fucoidana	41
4.3 Técnicas de caracterização	41
4.3.1 Caracterização das soluções poliméricas viscosidade e condutividade ..	41
4.3.2 Ângulo de contato	43
4.3.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IR-TF)	45
4.3.7 Difração de Raio-X	46
4.3.8 MEV e Distribuição de tamanho	46
4.3.9 Citotoxicidade	48
5. Considerações finais	51
6. Desempenho acadêmico	52
7.1 Trabalhos correlatos	52

7.1.1 Trabalhos publicados desde o ingresso no mestrado.....	52
7.1.2 Trabalhos aceitos para publicação.....	52
7.1.3 Trabalhos submetidos	53
7.1.4 Patentes	53
Referências	53
Anexos	75

1. Introdução

As nanofibras têm despertado crescente interesse devido às suas propriedades únicas, como alta relação superfície/volume, porosidade ajustável e capacidade de incorporar diversos materiais funcionais. Tais características as tornam ideais para aplicações em cicatrização de feridas, engenharia de tecidos e construção de arquiteturas 3D (Fathi-Achachelouei *et al.*, 2019). Diversas técnicas são empregadas para a fabricação de nanofibras, incluindo extrusão de bicomponentes, separação de fases, síntese por moldes, desenho, sopro por fusão, fiação centrífuga e eletrofiação (Almetwally *et al.*, 2017). Dentre essas, a eletrofiação destaca-se como uma técnica amplamente utilizada devido às suas vantagens, como custo-benefício, simplicidade, eficiência e facilidade no controle da estrutura e do diâmetro das fibras (nm a µm) (Yoon *et al.*, 2018). Nesse processo, uma solução polimérica é submetida a um campo elétrico, gerando um jato que se estende e solidifica ao se mover em direção a um coletor, formando fibras com diâmetros na escala nanométrica (Mercante *et al.*, 2017). A eletrofiação possibilita a fabricação de nanofibras a partir de uma ampla gama de materiais como polímeros sintéticos como poliacrilonitrila, óxido de polietileno, poliestireno ou poliuretanos, biopolímeros contendo proteínas como colágeno, gelatina ou fibrinogênio da seda (Vaseashta; Bolgen, 2022). Além disso, também podem ser empregados polissacarídeos como celulose, alginato e fucoidana (Karaduman; Çulha; Horzum, 2022), permitindo assim o desenvolvimento de materiais com propriedades específicas (Kumar *et al.*, 2019).

As macroalgas marinhas, conhecidas há séculos por sua relevância na dieta de países do extremo oriente como Japão e Coreia (Peñalver *et al.*, 2020), são ricas em nutrientes e fontes importantes de polissacarídeos complexos, minerais, proteínas e vitaminas, além de diversos fitoquímicos. Seu consumo está alinhado à crescente demanda por produtos orgânicos e ambientalmente sustentáveis (Afonso *et al.*, 2019). Segundo o relatório da *Seafood Source*, o mercado global de algas deve alcançar US\$ 22,1 bilhões até 2024 (Afonso *et al.*, 2019). As macroalgas são classificadas conforme a composição de pigmentos: algas verdes (filo Chlorophyta), algas marrons (filo Phaeophyta) e algas vermelhas (filo Rhodophyta). As algas marrons são as mais consumidas (66,5%), seguidas pelas vermelhas (33%) e verdes (5%) (Lorenzo *et al.*, 2017). Dentre as algas marrons, as Phaeophyceae destacam-se pelo alto teor de fitoquímicos e pelas propriedades terapêuticas, o que as torna candidatas promissoras

como agentes bioativos em setores como o de alimentos funcionais, saúde, indústria, produtos farmacêuticos, cosmeceuticos, dentre outros (Catarino; Silva; Cardoso, 2018). As algas marrons, ricas em polissacarídeos com diversas atividades biológicas, têm recebido crescente atenção, destacando-se especialmente a fucoidana, um composto de grande interesse proveniente desses organismos marinhos. As fucoidanas são polissacarídeos sulfatados extraídos de algas marrons, compostas principalmente de fucose (Mensah *et al.*, 2023). Pesquisas recentes investigam suas aplicações biotecnológicas, incluindo efeitos antitumorais (Wu *et al.*, 2016), anticoagulantes (Jin *et al.*, 2013), antivirais (Pradhan *et al.*, 2022), antimicrobianos (Poveda-Castillo *et al.*, 2018), antibacterianos (Zhao *et al.*, 2018), antidiabéticos (Wen *et al.*, 2021), nefroprotetores (Xue *et al.*, 2021), antioxidantes (Chen *et al.*, 2021), anti-inflamatórios e imunomoduladores (Apostolova *et al.*, 2020). Embora a fucoidana possua inúmeras propriedades interessantes, a eletrofiação desse polímero ainda apresenta desafios, principalmente devido à sua baixa viscoelasticidade e dificuldades de solubilidade (Chen *et al.*, 2021).

Com isso, a zeína, proteína de armazenamento do milho que corresponde a 80% de seu conteúdo proteico, tem sido amplamente utilizada na eletrofiação de fibras. Trata-se de uma prolamina com propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas (Luo *et al.*, 2023), sendo composta majoritariamente por aminoácidos hidrofóbicos (Torres *et al.*, 2020). A zeína é solúvel em soluções aquosas de álcool (60% a 95%), mas não em água (Liu *et al.*, 2023). Além disso, é um polímero não tóxico, amplamente reconhecido como seguro e proveniente de recursos renováveis (Kasaai, 2018). Seu uso tem ganhado relevância nos setores alimentício e nutricional devido à sua abundância, biodegradabilidade, alta estabilidade térmica, hidrofobicidade, barreira ao oxigênio, elasticidade e facilidade de formação de fibras (Rezazadeh *et al.*, 2022). Considerando o potencial das soluções poliméricas de zeína para a obtenção de nanofibras e as variadas bioatividades das fucoidanas extraídas de algas marrons, este estudo visa desenvolver nanofibras a partir de uma solução polimérica contendo zeína e fucoidana a fim de aplicá-la como adesivo cicatrizante para pele.

2. Revisão da literatura

2.1 Nanofibras

Ao longo dos anos, foram desenvolvidos novos métodos de síntese, além de ferramentas avançadas para caracterização e manipulação, possibilitando a obtenção e aplicação de nanomateriais com estruturas, morfologias, composições e propriedades inovadoras em diversas áreas da ciência (Mercante; Côrrea, 2023). O interesse por esses materiais surge devido a suas propriedades serem substancialmente distintas das observadas em materiais nas escalas micro e macro (Sanfelice; Pavinatto; Corrêa, 2022).

Nanomateriais de zero-dimensão (0D) possuem todas as dimensões do material na escala nanométrica, como no caso das nanopartículas e os pontos quânticos (do inglês *quantum dots*) (Sanfelice, Pavinatto e Corrêa, 2022). Já os nanomateriais unidimensionais (1D) possuem uma dimensão fora da nanoescala, com exemplos comuns incluindo nanobastões, nanotubos, nanofios, nanofitas e nanofibras. Por outro lado, nanomateriais bidimensionais (2D) possuem apenas uma dimensão na escala nanométrica, como nanofolhas, nanoplacas e filmes finos (Mercante; Corrêa, 2023).

As fibras com diâmetros inferiores a 100 nm são classificadas como nanofibras, enquanto aquelas com diâmetros entre 100 nm e 1.000 nm são frequentemente denominadas fibras ultrafinas. Contudo, o termo "nanofibras" é amplamente utilizado na literatura científica para descrever ambos os tipos de materiais (Rodrigues *et al.*, 2022). Na definição de nanofibra, o termo pode ser dividido em duas partes, "nano" e "fibra" (Almetwally *et al.*, 2017). Uma "fibra" é definida, do ponto de vista geométrico, como um objeto ou estrutura delgada, alongada e semelhante a um fio (Ramakrishna *et al.*, 2015) e o termo "nano" refere-se à escala de um bilionésimo da unidade (Ahmadian *et al.*, 2021). Dito posto, as nanofibras têm sido utilizadas em uma ampla gama de aplicações devido às suas propriedades exclusivas, como área de superfície extremamente alta em relação ao peso, baixa densidade, alto volume de poros, tamanho pequeno de poros, rigidez superior e resistência à tração em comparação com as fibras convencionais (Islam *et al.*, 2019). E estas tem sido aplicada como baterias e células de combustível, capacitores, transistores e diodos, sistemas de transferência de energia, compostos para estruturas aeroespaciais, entrega de fármacos e engenharia de tecido (Almetwally *et al.*, 2017).

Além disso, diversas técnicas têm sido utilizadas para produzir nanofibras, as quais podem ser classificadas em dois grupos, as técnicas de eletrofiação, em que a força eletrostática é usada para a formação de fibras (Kutner; Sharma, 2018), e de não eletrofiação, em que a força mecânica é usada (Nadaf *et al.*, 2022). O alinhamento desejado, o custo, a quantidade e o material fibroso necessário são os fatores a serem levados em consideração ao escolher entre esses métodos (Islam *et al.*, 2019). Pq é melhor.

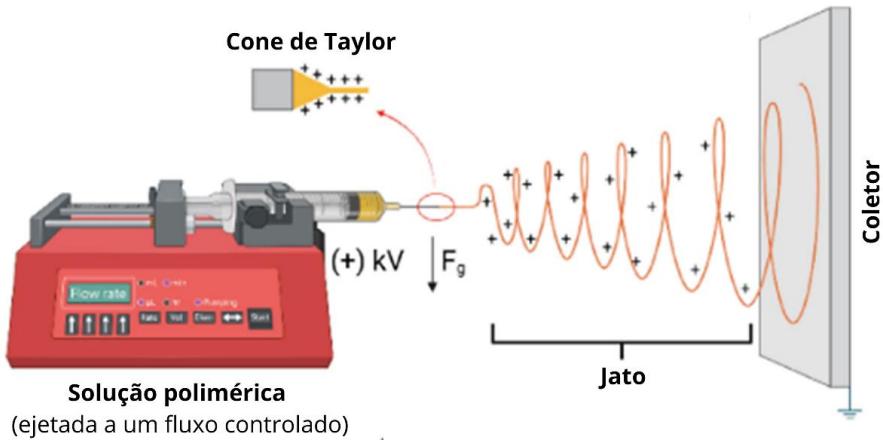
2.2 *Electrospinning*

A eletrofiação é um método eficiente para obtenção de nanofibras, pois é de simples utilização e possibilita a produção de fibras com uma excelente relação volume/área (Almetwally *et al.*, 2017). Desde sua primeira aplicação, inúmeros estudos e patentes sobre essa técnica foram publicados, destacando seu potencial na produção de micro e nanofibras para uma variedade de aplicações (Mercante; Corrêa, 2023).

A eletrofiação é um dos métodos mais convencionais usados para a preparação de fibras contínuas e se baseia no princípio de que as forças eletrostáticas podem ser usadas para formar e expandir fibras a partir de soluções de polímeros ou fundidos com diâmetros que variam de algumas dezenas de nanômetros a micrômetros (Kutner; Sharma, 2018). Durante a eletrofiação, aplica-se alta tensão para carregar uma solução líquida ou fundida, colocando-a entre dois condutores que suportam a carga eletromagnética de polaridades opostas, esticando o polímero para formar fibras (Guarino; Ambrosio, 2018).

O funcionamento desse processo baseia-se na formação de um campo eletromagnético, utilizando uma fonte de alta tensão, uma bomba acoplada a uma seringa e um coletor (Figura 1) (Mercante *et al.*, 2017). O processo ocorre quando uma solução polimérica, contida na seringa, é eletricamente carregada por alta voltagem, formando um jato que sai da agulha da seringa, inicialmente no formato de uma gota esférica que evolui gradualmente para um cone (comumente referido como cone de Taylor), em direção ao coletor (Mercante *et al.*, 2017). Para a diferença de potencial elétrico, um eletrodo positivo é conectado ao sistema que injeta a formulação, enquanto um eletrodo negativo é conectado a um coletor metálico na extremidade oposta (Xue *et al.*, 2019).

Figura 1 – Esquema ilustrativo da técnica de eletrofiação na configuração convencional com agulha



Fonte: Adaptado de Keirouz *et al.*, 2019.

A força eletrostática produzida pela fonte de alta tensão é aplicada à solução ou fusão do polímero, que é dispensada pelo orifício da agulha fina em uma velocidade controlada. Com o aumento da tensão elétrica, o campo eletromagnético se intensifica, proporcionando o alongamento da gota de fluido formada na ponta do capilar, resultando em uma fibra sólida no coletor. Durante esse processo, o solvente utilizado na formulação polimérica é evaporado (Xue *et al.*, 2019). A solidificação da solução líquida ocorre pelo estabelecimento de uma zona que empurra as moléculas carregadas, permitindo a evaporação contínua do solvente, esticando os fios de polímero estirados à medida que avançam em direção ao coletor aterrado ou opcionalmente carregado (Vaseashta; Bölgens, 2022).

Devido às suas características como área de superfície grande em relação ao volume, rigidez e resistência à tração, propriedades físicas e químicas exclusivas, capacidade de fabricação com vários polímeros, ajuste do diâmetro das fibras e flexibilidade nas funcionalidades de superfície (Rashid; Gorga; Krause, 2021), a eletrofiação tem estado na vanguarda da pesquisa e da industrialização de materiais avançados baseados em fibras (Zaarour; Zhu; Jin, 2020). Em comparação com outros métodos de fabricação de fibras em escala submicrométrica/nanométrica, a eletrofiação é considerada uma rota escalonável, econômica e razoavelmente automatizada de fabricação com pouca mão de obra, que vem ganhando terreno continuamente nas últimas duas décadas (Keirouz *et al.*, 2023). As fibras eletrofiadas têm sido amplamente aplicadas em diversas áreas, como: engenharia de tecidos (Zhang *et al.*, 2022), aplicações biológicas (Das *et al.*, 2019), sensoriamento (Cleeton

et al., 2019), filtragem (Barbosa *et al.*, 2019), curativos para feridas (Li *et al.*, 2022), superfícies autolimpantes (Wang *et al.*, 2022), biotecnologia (Barbosa *et al.*, 2019), tratamento de água (Shayegan; Ali; Safarifard, 2020) e química verde (Avossa *et al.*, 2022). A produção de fibras pela técnica de eletrofiação pode ser feita com diferentes polímeros (sintéticos e/ou naturais), solúveis em diferentes solventes. Polímeros naturais como quitosana, zeína, gelatina, celulose, entre outros, são eficientes para produção de fibras (Kumar *et al.*, 2019).

2.3 Macroalgas marrons

As algas marinhas apresentam uma composição nutricional rica em proteínas, minerais, vitaminas, fibras solúveis e insolúveis, bem como uma variedade de moléculas bioativas (Healy *et al.*, 2023), podendo ser classificadas em três tipos, de acordo com seu conteúdo de pigmentos: algas vermelhas (Rhodophyceae), algas verdes (Chlorophyceae) e algas marrons (Phaeophyceae) (Tanna; Mishra, 2019). Projeções indicam que o mercado de produtos derivados de algas marinhas deverá crescer de US\$ 4,7 bilhões para US\$ 6,4 bilhões até 2026, impulsionado por suas diversas aplicações na área da saúde (El-Beltagi *et al.*, 2022). As propriedades benéficas a saúde das algas marrons está associada principalmente à sua abundância em nutrientes e fitoquímicos específicos, como fibras, clorotaninos, fucoxantina e minerais (Peñalver *et al.*, 2020). No entanto, seus níveis são muito variáveis de acordo com fatores distintos, incluindo os gêneros e as espécies de algas, a maturidade e as condições ambientais, ou seja, as variações às quais o habitat natural das algas pode estar sujeito, como estação do ano, temperatura, salinidade, correntes oceânicas, ondas ou até mesmo profundidade de imersão, bem como condições de armazenamento e processamento pós-colheita (Afonso *et al.*, 2019). Atualmente, cerca de trinta e dois milhões de toneladas de macroalgas são processadas em todo o mundo, sendo a maior colheita no sudeste da Ásia (Otero *et al.*, 2023).

As macroalgas, ou algas marinhas, contêm altos teores de carboidratos (até 60%), quantidades moderadas a elevadas de proteínas (10-47%), baixos níveis de lipídios (1-3%) e um teor variável de cinzas minerais (7-38%) (Dominguez; Loret, 2019). Elas também apresentam diversos aminoácidos, como treonina, alanina, arginina, glutamato e aspartato. Além disso, esses organismos são fontes de micronutrientes, como manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) (Adarshan *et al.*, 2023). Outros componentes presentes nas

macroalgas incluem esterois, pigmentos, terpenos e polifenois (Ptak; Fretté, 2021). As clorofilas a e b são os principais pigmentos das macroalgas, enquanto os carotenoides funcionam como pigmentos acessórios, sendo ambos amplamente distribuídos entre as diferentes algas marinhas. Nas algas verdes, as clorofilas a e b estão presentes em proporções semelhantes às das plantas superiores, o que lhes confere a cor verde (Tanna; Mishra, 2019). O pigmento acessório xantofila fucoxantina está presente em quase todas as algas marrons, o que mascara as clorofilas e outras xantofilas. Nas algas vermelhas, a ficoeritrina é dominante e responsável por sua coloração (Khatulistiani *et al.*, 2020).

Em 2019, o cultivo de algas marinhas representou cerca de 30% da produção total da aquicultura. Atualmente, as algas vermelhas e marrons ocupam a segunda e a terceira posições entre os grupos de espécies mais cultivados na aquicultura global (Siddik *et al.*, 2023). As marrons compreendem aproximadamente 2.000 espécies descritas, sendo uma das poucas linhagens eucarióticas a desenvolver multicelularidade complexa (Bringloe *et al.*, 2020). Esse grupo diversificado de algas é conhecido por sua coloração, que varia do verde-oliva ao marrom-dourado claro. Essa variação decorre da presença de cromatóforos que contêm o pigmento xantofila, principalmente a fucoxantina, cuja alta concentração, juntamente com outros carotenoides, encobre os pigmentos residuais de clorofilas a e c, além de outras xantofilas, resultando na coloração marrom característica (Zhang *et al.*, 2020). O tamanho das algas marrons pode variar desde pequenos filamentos até grandes massas de algas marinhas (Wehr, 2015), com a maioria das espécies concentrando-se na zona entre marés (Zhang *et al.*, 2020).

Dentre as espécies de algas marrons, *Durvillaea antarctica* (Figura 2) é a mais consumida pela população chilena, com um consumo aproximado de 0,5 kg per capita. Essa alga cresce predominantemente nas costas do Chile e da Nova Zelândia (El-Beltagi *et al.*, 2022). *D. antarctica* se destaca pelo baixo teor calórico e pelo alto teor de ácidos graxos essenciais, como o ômega-3, além de ser uma fonte rica em compostos bioativos com propriedades benéficas à saúde (Guerrero-Wyss *et al.*, 2023). Normalmente, essa alga contém cerca de 11% de proteínas, 65% de carboidratos e 0,8-4,3% de lipídios totais (Quiñones *et al.*, 2021).

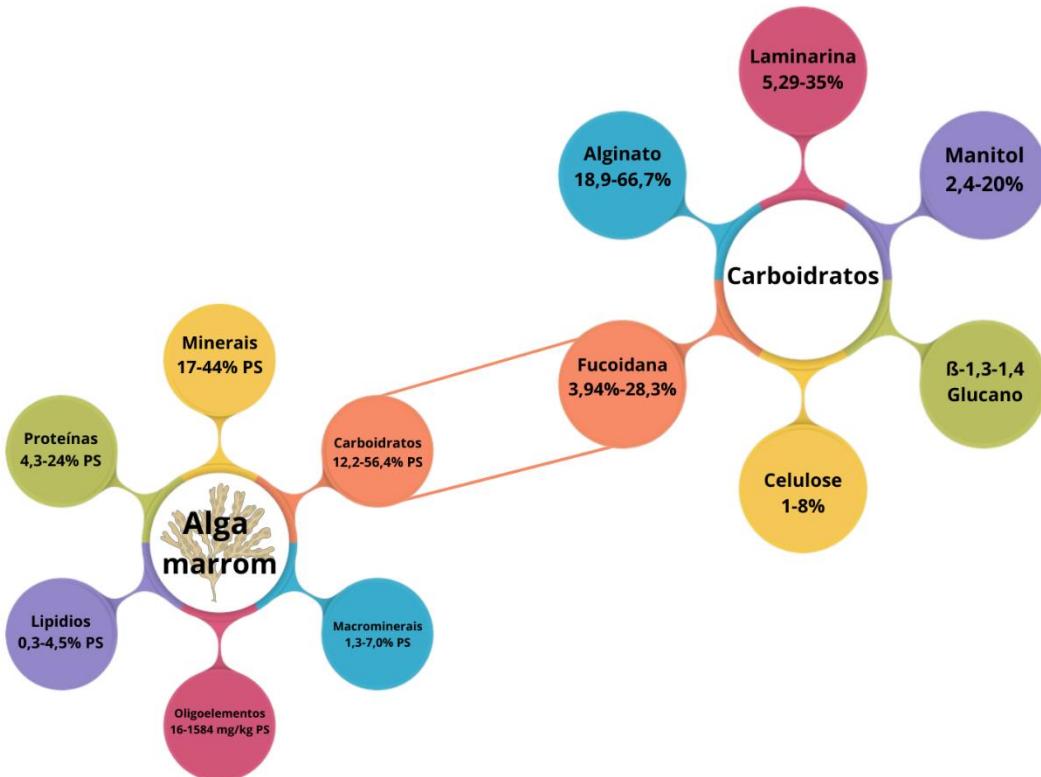
Figura 2 – Macroalga *Durvillaea antarctica* coletada na região de Punta Arenas – Chile



Fonte: Este trabalho.

As algas marrons são também uma importante fonte de polissacarídeos com diversas atividades biológicas. Os polissacarídeos alginato, laminarina e fucoidana (Figura 3) representam mais de 50% do peso seco total dessas algas, podendo alcançar até 70% em algumas espécies (Li *et al.*, 2021). As proporções e estruturas desses polissacarídeos variam entre as espécies, com diferenças significativas dependendo das condições de cultivo e das épocas de colheita (Kadam *et al.*, 2015). Entre os polissacarídeos das algas marrons, as fucoidanas têm recebido especial atenção nos últimos anos devido aos seus benefícios à saúde humana (Mensah *et al.*, 2023). As fucoidanas tem a capacidade de mediar efeitos anti-inflamatórios por meio da redução da adesão de neutrófilos e do recrutamento de leucócitos, ou da inibição da liberação de citocinas pró-inflamatórias (Park *et al.*, 2017). Além disso, as fucoidanas têm o potencial de aumentar a proliferação de fibroblastos dérmicos e a deposição de colágeno (Senni *et al.*, 2006), o que potencializa sua aplicação em setores farmacêuticos e cosmecêuticos.

Figura 3 – Componentes das algas marrons



Fonte: Adaptado de Li *et al.* (2021).

2.4 Propriedades biológicas das fucoidanas

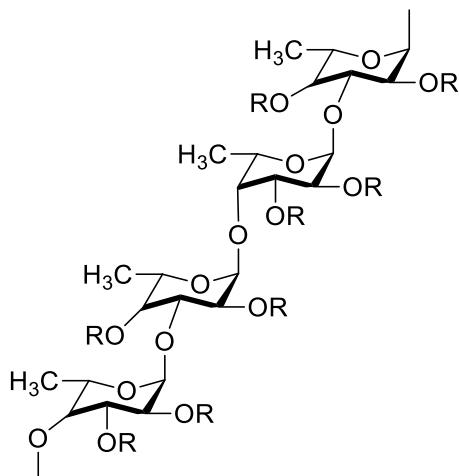
Sabe-se que as macroalgas marrons produzem diferentes tipos de polissacarídeos e/ou fibras que, apesar de sua variabilidade, representam os principais componentes que podem chegar a 70% de seu peso seco (Afonso *et al.*, 2019). Os polissacarídeos de algas marinhas como ulvan, fucoidana e carragenana obtidos de algas verdes, marrons e vermelhas, respectivamente, são usados em sistemas de *drug delivery* devido às suas propriedades gelificantes (Cunha; Grenha, 2016). Estes promovem efeitos contra câncer e inflamação, por meio de suas propriedades inerentes como antioxidantes, anticoagulantes, dentre outras (Hamed *et al.*, 2015). Essas atividades estão associadas às estruturas e composições químicas dos polissacarídeos, bem como a fatores que afetam suas propriedades físico-químicas (Tanna; Mishra, 2018).

Várias ferramentas e técnicas são utilizadas para a extração, purificação e caracterização de compostos de algas marinhas, que desempenham um papel importante no estudo das atividades bioquímicas dos metabólitos extraídos, incluindo os polissacarídeos (Tanna; Mishra, 2018). As variações na biologia das algas marinhas, nas espécies ou nos ciclos biológicos, bem como as diferenças sazonais,

influenciam as características dos polissacarídeos, incluindo o teor de sulfato, a composição de monossacarídeos e o peso molecular (Kumar *et al.*, 2021). A estrutura química dos polissacarídeos também pode ser afetada por parâmetros relacionados à biologia das macroalgas. Devido ao fato de que a maioria das macroalgas atualmente comercializadas no mercado europeu é de biomassa colhida em estado selvagem, é necessário estudar as diferenças sazonais e sua influência sobre o conteúdo e a estrutura química dos polissacarídeos para obter uma melhor compreensão desses compostos e sua futura exploração de macroalgas colhidas tanto em estado selvagem quanto em cultura (Garcia-Vaquero *et al.*, 2017).

Dentre os polissacarídeos existentes nas algas marrons, as fucoidanas são um termo amplo que engloba todos os polissacarídeos sulfatados que contêm principalmente resíduos de L-fucose e fucopiranosil. Esses incluem os ascofilanos (que são compostos de cadeias de ácido manurônico com resíduos de fucose ramificados); glicuronofucogalactanos (compostos de cadeias lineares de D-galactose com ramificações de L-fucose-3-sulfato e possíveis ácidos urônicos); sargassanos (compostos de ácido glucurônico, manose e galactose com cadeias laterais de galactose, xilose e fucose altamente sulfatadas); e os galactofucanos (com proporções iguais de unidades de L-fucose e D-galactose) (Gomes-Dias; Texeira; Rocha, 2022). A estrutura molecular da fucoidana pode ser observada na Figura 4.

Figura 4 – Esquema da estrutura da fucoidana; substituintes de carboidratos R: xilose, arabinose, ramnose, glicose, galactose ou ácido urônico e substituintes não carboidratos: resíduos de sulfato ou acetato



Fonte: Adaptado de Citkowska, Szekalska e Winnicka (2019).

Dentre as aplicações das fucoidanas, é possível citar efeitos antiproliferativo, antimetastático, antiangiogênico, indução de apoptose, atenuação do efeito adverso da quimioterapia e também atividade antiviral, bem como a ativação do sistema imunológico, têm obtido excelentes resultados (Wang *et al.*, 2019). Além disso, já foi relatado que as fucoidanas se apresentam como uma possibilidade terapêutica, suplementação da dieta de pacientes com câncer e também com a possibilidade de reduzir os efeitos colaterais da quimioterapia convencional (Do-Amaral *et al.*, 2020). As fucoidanas obtidas de diferentes espécies e áreas geográficas têm estruturas diferentes com potencial diversidade em suas atividades farmacológicas. Os diferentes métodos de extração afetam a natureza das fucoidanas, ao mesmo tempo em que alteram sua estrutura química. As condições de extração incluem o tempo, a temperatura, o solvente, os tempos de ciclo e a potência (Du *et al.*, 2022).

A extração clássica de fucoidanas de algas marrons geralmente envolve tratamentos de várias etapas com água quente, ácido ou com solução aquosa de cloreto de cálcio (CaCl_2), cada etapa com duração de várias horas (Ale *et al.*, 2012). Outras técnicas de extração também já foram relatadas, como a extração assistida por micro-ondas para tornar a extração mais eficiente tanto em termos de tempo quanto de recursos, assim utilizando água como solvente (Yuan; Macquarie, 2015). Além disso, Wan e colaboradores (2015) utilizaram a técnica de extração ultrassônica para melhorar o rendimento dos polissacarídeos da *Laminaria japonica*. Em comparação com o método tradicional de extração com água quente, a extração por ultrassom requer menos tempo e é mais eficiente (Wan *et al.*, 2015).

Além disso, alguns estudos demonstraram que a fucoidana de baixo peso molecular tem um efeito cicatrizante em feridas na pele. Entretanto, até o momento, há poucas informações sobre seus efeitos de cicatrização de feridas *in vivo* (Goushki; Sabahi; Kabiri, 2023). Após a lesão da pele, o reparo da ferida envolve um processo complexo no qual a angiogênese desempenha um papel crucial. Pesquisas anteriores indicaram que a fucoidana pode ajudar na cicatrização de feridas; portanto, Wen *et al.* (2023) estudaram a hipótese de que a fucoidana pode acelerar o processo ao promover a angiogênese. Utilizando um modelo de ferida de corte total, foi observado que a fucoidana intensificou significativamente o fechamento da ferida e promoveu a formação de granulação e a deposição de colágeno. De modo geral, este estudo sugere que a fucoidana pode promover a angiogênese por meio da via de sinalização AKT/Nrf2/HIF-1 α e acelerar a cicatrização de feridas (Wen *et al.*, 2023).

No estudo realizado por Park *et al.* (2017), foi relatado que a fucoidana de baixo peso molecular acelerou a cicatrização de feridas, o que foi apoiado pelo aumento da formação de tecido granular no quarto dia pós-tratamento, mas uma diminuição no sétimo dia, acompanhada por uma redução evidente das células inflamatórias. Além disso, o tratamento com fucoidana reduziu a peroxidação lipídica e aumentou as atividades antioxidantes. Isso sugere que o fucoidana de baixo peso molecular promove a cicatrização de feridas dérmicas por meio de atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e dependentes de fatores de crescimento complexas e coordenadas (Park *et al.*, 2017). Shanmugapriya, Kim e Kang (2023), fabricaram e a avaliaram um hidrogel de goma gelana à base de fucoidana/alginato e nanofibrilas de carboximetilcelulose para a cicatrização de feridas com abordagens fotodinâmicas. Foi observada uma cicatrização mais rápida de feridas com aumento de fibroblastos e fibras de colágeno de alta expressão proteica. Portanto, essas descobertas sugerem que o hidrogel desenvolvido é um agente terapêutico potente que pode ser usado para promover a cicatrização rápida e eficiente de feridas no tratamento de feridas cutâneas (Shanmugapriya; Kim; Kang, 2023).

Além destas aplicações e diferentes formas de extração de fucoidanas, estudos também já relataram o uso de fucoidanas para a produção de nanofibras. Chen *et al.* (2021) produziram nanofibras de fucoidana/óxido de polietileno de peso molecular modificadas com quitosana para estudar sua interação com células endoteliais e investigar a influência das propriedades físico-químicas no comportamento celular e na adesão de monócitos (Chen *et al.*, 2021). Experimentos celulares demonstraram que as nanofibras de fucoidana/óxido de polietileno modificadas com quitosana facilitaram a adesão de células endoteliais e suprimiram a adesão de monócitos, apresentando grande potencial para aplicação na área de engenharia de tecidos vasculares (Chen *et al.*, 2021).

Lu *et al.* (2022) modificaram nanofibras de quitosana com fucoidana e nanopartículas de CuS, avaliando os efeitos bactericidas quimiodinâmicos, fototérmicos e quimiofotodinâmicos, além da influência da modificação na diferenciação de osteoblastos (Lu *et al.*, 2022). A modificação do quitosana com fucoidana aumentou a atividade osteoindutora sem efeitos citotóxicos. Dessa forma, isso demonstra a potencial aplicação deste complexo em campos biomédicos, como infecções ósseas e de feridas e regeneração de tecidos, após estudos adicionais *in vivo* (Lu *et al.*, 2022).

Puigmal *et al.* (2024) desenvolveram nanofibras de álcool polivinílico, quitosana e fucoidana para aplicações em engenharia de tecidos cutâneos (Puigmal *et al.*, 2024). Foi possível observar que as nanofibras carregadas com fucoidana apresentaram propriedades antibacterianas promissoras contra cepas bacterianas patogênicas testadas, inclusive *E. coli* e *S. aureus*. A ampla gama de atividade biológica inerente a esse polissacarídeo é um fator que contribui para a aplicação diferencial da engenharia de tecidos da pele. Neste trabalho foi relatado que a utilização de fucoidana não apenas ofereceu proteção para a substância ativa carregada, mas também aumentou sua potência e melhorou a eficácia do tratamento (Puigmal *et al.*, 2024).

Apesar de suas inúmeras propriedades de interesse, a eletrofiação da fucoidana continua sendo um desafio devido à sua baixa viscoelasticidade e problemas de solubilidade (Chen *et al.*, 2021). Com isso, foi relatado que outros polímeros naturais por exemplo, quitosana, celulose, alginato de sódio, proteína com uma pequena quantidade de polímero de peso molecular ultra-alto, como óxido de polietileno, álcool polivinílico e polivinilpirrolidona, podem permitir sua preparação em nanofibras via eletrofiação (Li *et al.*, 2015). Para superar essas deficiências no processo de eletrofiação de fucoidanas, se faz interessante a associação com a zeína, uma proteína natural que tem atraído intensa atenção e tem sido pesquisada como um material renovável e biodegradável emergente por meio de eletrofiação com diferentes modificações e processamento (Chen *et al.*, 2022), para obtenção de nanofibras.

2.5 Zeína

A zeína, a principal proteína de reserva do milho, é aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) e classificada como um ingrediente geralmente reconhecido como seguro (Liang *et al.*, 2022). Com uma estrutura molecular composta por uma cadeia polipeptídica rica em aminoácidos hidrofóbicos, como alanina, fenilalanina, isoleucina, leucina, prolina e valina (Yan *et al.*, 2022), a zeína apresenta características anfifílicas, tendo mais de 50% de grupos hidrofóbicos e uma menor proporção de aminoácidos hidrofílicos (Chen *et al.*, 2022). Sua composição química confere-lhe a propriedade de ser insolúvel em água, embora se dissolva facilmente em soluções com alto teor de etanol (Huang *et al.*, 2023).

Essas propriedades tornam a zeína um material promissor para diversas aplicações industriais, especialmente na entrega controlada de fármacos e compostos bioativos, devido à sua hidrofobicidade, adesão, resistência à digestão e eficácia na absorção intracelular (Tortorella *et al.*, 2021). A zeína também resiste à degradação por enzimas digestivas, prolongando a exposição de compostos encapsulados no trato gastrointestinal e aumentando sua absorção e eficácia terapêutica (Luo *et al.*, 2023). Além de sua ampla disponibilidade, já que o milho é uma das culturas mais produzidas no mundo com cerca de 1,129 bilhões de toneladas em 2021 (Chen *et al.*, 2021), a zeína também é um subproduto da indústria de amido e cervejeira (Jiang *et al.*, 2023). Na indústria farmacêutica, ela se destaca por ser um material natural, biodegradável, biocompatível e não tóxico, com grande potencial para a fabricação de filmes, revestimentos e fibras, devido à sua estabilidade térmica e resistência à umidade (Amjadi *et al.*, 2020). Essas propriedades também fazem da zeína uma barreira eficaz contra luz, oxigênio, umidade e contaminações microbianas (Bharathi *et al.*, 2020). Assim, seu uso tem sido explorado em diversas áreas biomédicas, como curativos (Martin *et al.*, 2022), sistemas de entrega (Creighton *et al.*, 2020) e *scaffolds* (He *et al.*, 2017), posicionando-a como um material emergente de grande potencial.

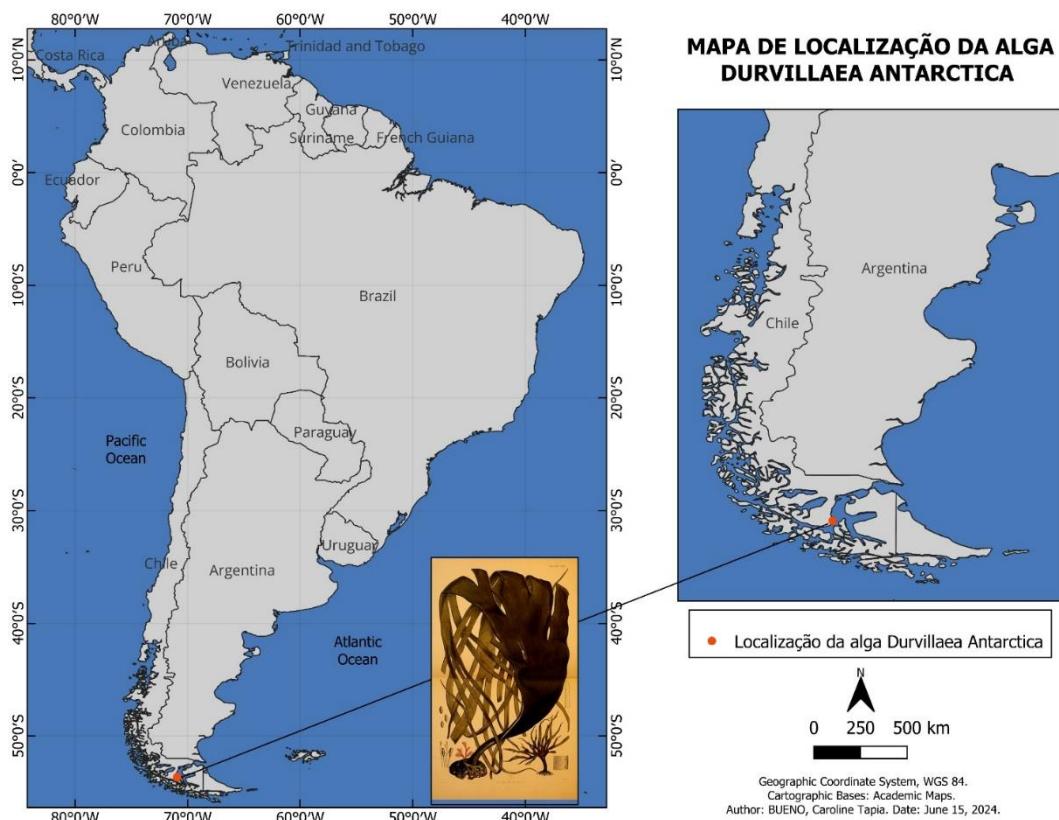
A eletrofiação de nanofibras e filmes de zeína teve avanços consideráveis nos últimos anos, os quais se tornaram possíveis graças às pesquisas atuais. Os pesquisadores exploraram várias estratégias para aumentar a capacidade de eletrofiação da zeína e melhorar a morfologia, as propriedades mecânicas e a funcionalidade da fibra (Jiang *et al.*, 2023). Além disso, a incorporação de aditivos, cargas ou compostos bioativos nas matrizes de zeína permitiu o desenvolvimento de nanofibras multifuncionais com propriedades antimicrobianas, antioxidantes ou de absorção de umidade (Rodríguez-Félix *et al.*, 2022). No entanto, a utilidade é restrita devido à vulnerabilidade do filme causada por sua extensibilidade, elasticidade e flexibilidade inadequadas. Entretanto, essas deficiências podem ser resolvidas com o uso da eletrofiação para converter a zeína em fibra (Jiang *et al.*, 2023). Neste contexto, o objetivo deste trabalho é produzir nanofibras a partir da solução polimérica da zeína e da fucoidana.

3. Metodologia

3.1 Obtenção da biomassa de *Durvillaea antarctica*

A macroalga *Durvillaea antarctica* foi coletada em janeiro de 2020 em águas com temperatura média de 11 °C na região subantártica de Punta Arenas (53° 38' 24.5" S 70° 56' 47.2" W) e áreas adjacentes, na Patagônia Chilena (Figura 5). Após a coleta, as amostras de algas foram preparadas conforme descrito por dos Santos *et al.* (2019). O material foi mantido sob refrigeração nas mesmas condições do momento da coleta, a 11,3 °C por 24 horas. Em seguida, as algas foram lavadas e desidratadas em estufa a 35 °C por, no mínimo, 120 horas. Após a desidratação completa, a alga foi moída em um moinho de facas por aproximadamente 10 minutos e armazenada em sacos plásticos hermeticamente fechados, contendo sílica gel no interior para garantir a manutenção da ausência de umidade.

Figura 5 – Localização da alga *Durvillaea antarctica*



Fonte: Este trabalho.

3.2 Análises físico-químicas da macroalga *Durvillaea antarctica*

3.2.1 Teor de proteína

O teor de proteína foi determinado utilizando a metodologia de AOAC International, 2016. Foi utilizado um microssistema de bloco digestor digital (Kjeldahl). Inicialmente, foram pesados 300 mg da macroalga, que foram transferidos para o tubo de digestão Kjeldahl. Em seguida, foi adicionada uma mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. As amostras foram submetidas à digestão até a completa decomposição, indicada pela mudança de coloração para verde-claro. Após o resfriamento, foram adicionados 50 mL de água destilada sob agitação, e as amostras foram acopladas ao destilador de proteínas. Para a destilação, foram utilizados 40 mL de hidróxido de sódio a 50%, imergindo o terminal do condensador em um erlenmeyer de 250 mL contendo 30 mL de solução de ácido bórico a 4% e 5 gotas de indicador misto. Aproximadamente 70 mL do destilado foram coletados e, posteriormente, titulados com ácido clorídrico até que a coloração do indicador mudasse de verde para rosa. Um branco foi conduzido utilizando apenas os reagentes, sem a amostra. O teor de proteína foi calculado como nitrogênio × 6,25, conforme a AOAC (2016), seguindo a equação 1:

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{100 \times 0,0014 \times 6,25 \times (V_a \times V_b) \times f \times N}{P} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

V_a = Volume da solução de ácido sulfúrico para titulação do material (mL).

V_b = Volume da solução de ácido sulfúrico para a titulação do branco (mL).

N = Normalidade da solução de ácido sulfúrico.

f = Fator de correção da solução de ácido sulfúrico.

P = Peso do material (g).

3.2.2 Quantificação de carboidratos

A extração foi realizada utilizando 2 g de biomassa e 100 mL de água desionizada, aquecidos a 100 °C por 1 hora e, em seguida, filtrados para obtenção do extrato aquoso. A quantificação de carboidratos foi realizada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), conforme descrito por Maldonade, de Carvalho e Ferreira (2013), utilizando alíquotas do extrato das algas. Para a análise, foi preparada uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1 M, à qual foram adicionados 2,5 g de DNS.

Simultaneamente, outra solução foi preparada sob aquecimento e agitação, dissolvendo-se 75 g de tartarato de sódio e potássio tetra-hidratado em 125 mL de água destilada. As duas soluções foram então misturadas e diluídas com água destilada até 250 mL.

O padrão de frutose foi utilizado para a construção de uma curva de calibração na faixa de 0 a 1 mg/mL. Para as reações, foram utilizados tubos de ensaio contendo 1,0 mL das soluções de amostra a 1 mg/mL em proporção de 1:1 (v/v) com 1,0 mL do reagente DNS, realizadas em triplicata ($n=3$). Os tubos foram agitados e incubados em banho-maria a 100 °C por 5 minutos. Após resfriamento, a análise espectroscópica foi realizada a 540 nm. Como branco da amostra, foi utilizada apenas água destilada. O procedimento foi repetido após hidrólise ácida, utilizando ácido clorídrico e hidróxido de sódio, em um volume de 2,0 mL em proporção de 1:1 (v/v), com banho-maria a 100 °C por 10 minutos.

3.2.3 Cinzas

Para determinação das cinzas, as amostras de macroalga foram incineradas em um forno a 550 °C por 6 h e pesadas (AOAC, 2016).

3.2.4 Determinação de fibras

A análise foi realizada submetendo a amostra à digestão ácida com solução de ácido sulfúrico a 1,25% por 30 minutos, seguida por digestão alcalina com solução de hidróxido de sódio a 1,25% por mais 30 minutos. Em seguida, o material foi filtrado a vácuo e o cadiño foi lavado com acetona e álcool etílico. Após a lavagem, o cadiño foi seco em forno por 1 hora e, posteriormente, mantido em mufla por 3 horas (AOAC, 2016).

3.2.5 Determinação de umidade

A análise de umidade da alga foi realizada em estufa a 105°C por até 6h. Para o cálculo da umidade da alga, foi utilizada a equação 2 (AOAC, 2016):

$$\text{Umidade (\%)} = 100 - \frac{(m' - t)}{(m - t) \cdot 100} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

m = massa total do sistema (vidraria mais alíquota da amostra) no início do processo;

m' = massa total do sistema (vidraria mais alíquota da amostra) no final do processo;

t = massa da vidraria utilizada;
100 = fator percentual de cálculo.

3.3 Espectrometria de absorção e emissão atômica

Para a determinação dos elementos cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), níquel (Ni) e zinco (Zn) foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica em chama (F AAS), enquanto que para potássio (K) e sódio (Na) um espectrômetro de emissão atômica em chama (FAES) modelo AAnalyst 200 (Perkin Elmer, Singapura), equipado com uma lâmpada de cátodo oco para cada analito a ser determinado (Lumina, Perkin Elmer) e uma lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo, exceto para o Na e K que tiveram as suas determinações realizadas no modo de emissão atômica. Além disto, foi utilizado como gás combustível o acetileno (Linde, Barueri, SP, Brasil) e como gás oxidante o ar comprimido. A altura do atomizador utilizada foi de 0,5 cm e a vazão do gás acetileno foi de 2,5 L min⁻¹ para todos os analitos.

A decomposição ácida seguiu o método descrito por Antunes *et al.* (2021), o qual consiste em pesar aproximadamente 250 mg de amostra, diretamente nos tubos de borossilicato. Posteriormente, foram adicionados 5,0 mL de ácido nítrico (HNO₃), acoplado o sistema de refluxo e colocado no bloco digestor a 150 °C por 2 horas. Após este período, foi adicionado 1,0 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e a solução retornou ao bloco por mais 30 min a 150 °C. Ao final, as amostras foram retiradas do bloco, deixadas esfriar, transferidas para frascos de polipropileno e aferidas a 20 mL com água destilada.

3.4 Análise de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

3.4.1 Extração dos ácidos graxos

A extração dos ácidos graxos da biomassa algal foi realizada pelo método adaptado de Bligh & Dyer (1959). Inicialmente, 1 g da amostra foi pesada e adicionada à 6 mL de uma mistura de clorofórmio (2:1). Os frascos fechados foram homogeneizados por 1 hora e, em seguida, centrifugados a 3000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante foi cuidadosamente recuperado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur em um recipiente metálico previamente tarado, onde os solventes foram completamente evaporados em uma placa de aquecimento (Corning, modelo PC-351). O precipitado remanescente foi submetido a uma segunda extração com 2 mL

de uma mistura de clorofórmio (1:2), seguida de um ciclo de ultrassom por 8 minutos e aquecimento até a ebulação incipiente. Após nova centrifugação, o sobrenadante foi evaporado no mesmo recipiente metálico. Uma terceira extração foi realizada com 2 mL de uma mistura de clorofórmio (1:1), deixando a solução em repouso durante a noite em um refrigerador. A amostra foi novamente centrifugada, e o sobrenadante foi transferido para o recipiente metálico para a evaporação completa dos solventes. Finalmente, os recipientes metálicos contendo as amostras foram pesados e o teor de lipídios foi determinado.

3.4.2 Derivatização com BF₃

Após a extração pelo método de Bligh & Dyer (1959), foi realizada a derivatização utilizando trifluoreto de boro (BF₃). O extrato foi inicialmente lavado com hexano, e 250 mg foram pesados em um balão de fundo redondo. Em seguida, foram adicionados 6 mL de uma solução metanólica de hidróxido de sódio a 2% m/v, agitando-se o balão. O sistema foi submetido a refluxo por 5 minutos. Após esse período, foram adicionados 5 mL do derivatizante BF₃/MeOH, mantendo-se o refluxo por mais 5 minutos. Posteriormente, a solução foi transferida para um funil de separação, onde foram adicionados 20 mL de hexano para promover a separação das fases. A fase aquosa inferior foi descartada, enquanto a fase orgânica superior foi filtrada com sulfato de sódio anidro e coletada em um balão. A solução foi então concentrada em rotaevaporador até a completa evaporação do solvente. Por fim, o resíduo foi lavado com 1 mL de hexano grau HPLC e transferido para um vial para análise posterior em cromatografia gasosa.

3.4.3 Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas CG-EM

Para obtenção da composição dos ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo GC-2010) acoplado a um espectrômetro de massas (GCMS-QP2020), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida SP 2560 (100 m x 0,25 mm x 0,10 µm). O método utilizado foi adaptado de dos Santos *et al.* (2021). O volume de amostra injetado foi de 8 µL na proporção de 1:50 no modo split. As condições de temperaturas de interface e da fonte de íons foram de 280 °C e 200 °C, respectivamente. Para o injetor, foi estabelecida a temperatura de 200 °C utilizando o gás de arraste Hélio com vazão de 3 mL/min. Enquanto para a coluna, a temperatura inicial foi de 100 °C permanecendo por 5 min nesta condição. Posteriormente, a

temperatura foi aumentada a uma taxa constante de aquecimento de 5 °C/min até 250 °C, totalizando o tempo de análise em 55 minutos.

3.5 Extração de fucoidanas

Inicialmente, 50 g da macroalga *Durvillaea antarctica* foram lavadas com 500 mL de álcool etílico absoluto sob agitação mecânica à temperatura ambiente por 24 horas, visando a remoção de pigmentos, proteínas (Rioux; Turgeon; Beaulieu, 2007), manitol e alguns sais (Foley *et al.*, 2011). A alga resultante foi separada por centrifugação e, em seguida, seca em estufa a 40 °C por 2 horas e a 50 °C por mais 1 hora.

Para a extração de fucoidana, seguiu-se o protocolo descrito por Yang *et al.* (2021). Foram pesadas 25 g da alga previamente limpa e seca, e 250 mL de solução de cloreto de cálcio 0,1 mol/L foram adicionados à amostra. A mistura foi mantida sob agitação constante a 65 °C por 2 horas. Após esse período, o sobrenadante foi removido e o processo de extração repetido. Em seguida, a solução foi centrifugada e o sobrenadante rotaevaporado até atingir 1/10 do volume inicial. Posteriormente, a solução foi centrifugada novamente, e o sobrenadante obtido foi precipitado pela adição de etanol em um volume quatro vezes superior. O precipitado foi então seco em estufa a 40 °C em placas de Petri.

3.6 Obtenção de nanofibras pela técnica de *Electrospinning*

3.6.1 Preparo das soluções

Para as formulações, primeiramente foram preparadas soluções de fucoidana em porcentagens diferentes, juntamente com o polímero zeína em uma concentração constante de 30% (Wu *et al.*, 2023), conforme Tabela 1. Após, a fucoidana e a zeína foram diluídas em uma solução aquosa de ácido fórmico 75% e mantidas em agitação até a solubilização completa do polímero, durante 3 horas. Para a produção da fibra controle (sem adição de fucoidana), foi preparada uma solução polimérica de zeína pura nas mesmas condições já descritas. Estas soluções foram mantidas sob agitação utilizando agitador magnético.

Tabela 1 – Fibras ultrafinas de zeína incorporadas com fucoidana

Zeína (%)	Fucoidana (%)
30	0 (controle)
30	25
30	30
30	35

Fonte: Este trabalho.

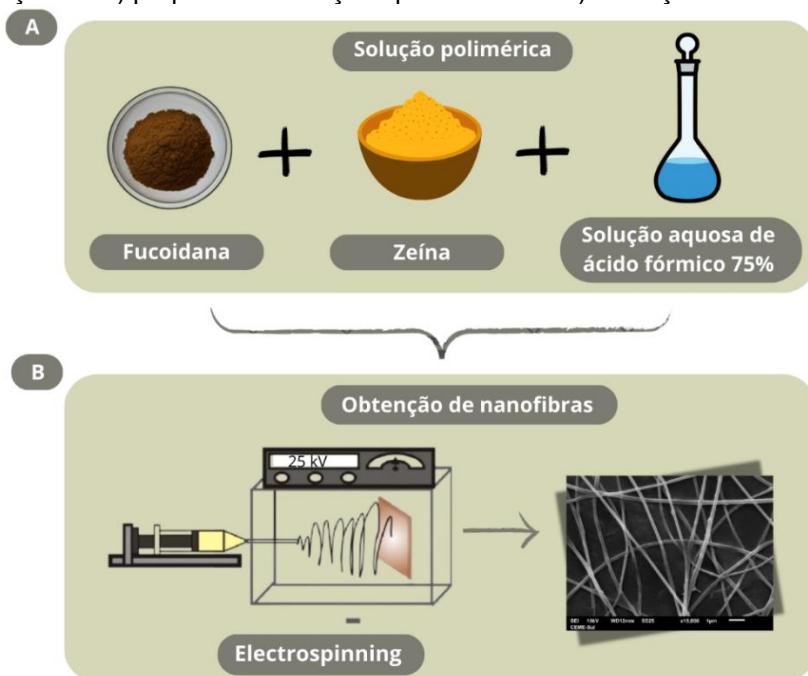
3.6.2 Caracterização das soluções poliméricas

As soluções poliméricas (Figura 6-A) foram caracterizadas quanto à viscosidade aparente e condutividade elétrica. A viscosidade aparente foi determinada em um viscosímetro digital marte modelo MDV-5 com spindle n° 0. A condutividade elétrica foi avaliada através de um condutivímetro (Medidor EC150 de condutividade em $\mu\text{S}/\text{cm}$ & mS/cm). Todas estas análises foram realizadas em triplicata e em temperatura ambiente ($\pm 23^\circ\text{C}$). Os parâmetros destas análises foram adaptados de Luduvico *et al.*, (2024).

3.6.3 Obtenção de fibras por *electrospinning*

Para a produção das fibras foi utilizada uma taxa de alimentação de 0,8 mL/h, diâmetro de agulha de 0,7 mm, adaptado de Chen *et al.*, (2021). As soluções poliméricas foram inseridas em seringas de 3 mL e uma bomba de infusão com seringa (KD Scientific, Model 100, Holliston, Inglaterra) para controle da taxa de fluxo da solução polimérica. O processo de eletrofiação foi realizado através da utilização de um eletrodo positivo, conectado a uma fonte de alta tensão com corrente contínua (INSTOR, INSES-HV30, Brasil), com uma tensão na faixa de 25 kV, ao qual estava acoplado diretamente na ponta da agulha metálica na saída da seringa e um eletrodo negativo foi conectado a um alvo metálico coberto com folha de alumínio posicionado no sentido horizontal à bomba de infusão a uma distância de 20 a 23 cm da ponta da agulha até o alvo, para a deposição das fibras, onde foram coletadas, conforme pode ser observado na Figura 6-B.

Figura 6 – Ilustração de A) preparo das soluções poliméricas e B) obtenção de nanofibras



Fonte: Este trabalho.

3.7 Técnicas de caracterização

3.7.1 Ângulo de contato

A hidrofobicidade das fibras obtidas foi avaliada através da medição do ângulo de contato, utilizando um tensiômetro Ótico Theta Lite modelo TL100 (Biolin Scientific – Suécia) em 20 °C. As membranas foram depositadas sobre lâminas de vidro e 10 µL de água destilada foi depositada sobre a amostra em triplicata na fibra (em lugares diferentes da mesma membrana), conforme metodologia de Prietto *et al.*, (2017). Foram observados o tempo inicial, após 30 e 60 segundos do depósito da água. Os três momentos foram registrados em câmera digital no modo de 6 FPS (quadros por segundo). Para aquisição dos dados, foi utilizado o software OneAttension.

3.7.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Para identificação dos grupos funcionais dos materiais, foi realizada a análise de IR-TF. Para esta análise, foi utilizado um espectrômetro de infravermelho Shimadzu, modelo SPIRIT, combinado com Reflectância Total Atenuada (ATR). Foram realizadas varreduras na faixapectral de 400 a 4000 cm⁻¹ a uma resolução de 4 cm⁻¹ e 45 scans.

3.7.3 Difração de Raio-X

Para analisar a estrutura cristalina dos materiais, foi realizada a análise de Difração de Raio-X. Para isso, as amostras sólidas foram introduzidas em um difratômetro de Raio-X (Shimadzu, modelo XRD-6000), e análises foram realizadas no intervalo 2θ (10° a 50°) com velocidade de varredura de $0,5^\circ/\text{min}$.

3.7.4 Morfologia e distribuição de tamanho

A morfologia das fibras obtidas foi avaliada por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Jeol, JSM - 6610LV, EUA). Uma parte do material foi adicionada em um *stub*, por meio de fita dupla-face e, recoberta com ouro por meio de um metalizador (Sputtering, Denton Vacuum Desk V, EUA), e sua análise foi realizada com uma aceleração de tensão de 10 kV. O diâmetro médio e a distribuição do tamanho das fibras foram analisados a partir da medição aleatória de 80 fibras por meio do software ImageJ (versão 2015, EUA), através das imagens obtidas do MEV.

3.7.5 Análise estatística

Os dados referentes a análise físico-química da biomassa de *Durvillaea antarctica* foram analisados com estatística descritiva, utilizando média \pm desvio padrão. A normalidade dos dados foi confirmada com o teste de Shapiro Wilk. ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$) foram escolhidos para a análise estatística dos parâmetros de viscosidade, condutividade e ângulo de contato. Essas análises estatísticas foram executadas com o software Statistix 8 (Analytical Software 2003; Tallahassee, FL, EUA).

3.8 Citotoxicidade

3.8.1 Cultura celular

As células L929, fibroblastos derivados do tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos, foram obtidas da *American Type Cell Collection* (Rockville, MD, EUA). Estas foram cultivadas em frascos de cultura e mantidas em meio de *Eagle* modificado de Dulbecco (DMEM) contendo penicilina/estreptomicina (100 U/L) e fungizona (0,1%), suplementado com 10% (v/v) de soro bovino fetal (FBS; pH 7,4). As células foram mantidas em uma incubadora umidificada com 5% de CO₂ a 37 °C.

3.8.2 Tratamento celular

As amostras das nanofibras foram inicialmente dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO) e depois diluídas em DMEM suplementado com 10% de FBS (pH 7,4) para atingir concentrações finais de fucoidana e zeína de 10, 50, 100 e 200 µg/mL, conforme metodologia de Ahmad *et al.* (2021). Para os ensaios de citotoxicidade, a linhagem celular de fibroblastos de camundongo L929 foi semeada em uma placa de 96 poços a 5×10^3 células/poço e tratada por 24 e 48 horas. As células expostas ao DMSO (concentração final de 0,05%) serviram como controles.

3.8.3 Ensaio de viabilidade celular

A viabilidade celular foi determinada usando o método de brometo de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazólio (MTT), que consiste na capacidade das células de reduzir o sal de MTT em cristais de formazam por desidrogenases mitocondriais (Mosmann, 1983). As culturas foram lavadas com tampão sem cálcio e magnésio (CMF) e incubadas com solução de MTT (0,5 mg/mL por poço) a 37 °C em uma atmosfera umidificada de 5% de CO₂ por 90 minutos. Em seguida, o meio foi removido e os cristais de formazan foram diluídos em DMSO. Por fim, a densidade óptica (DO) foi medida a 492 nm usando um leitor de microplacas (SpectraMAX 190). Os resultados foram calculados usando o software GraphPad Prism 8.0 (Prism GraphPad Software, San Diego, EUA) e expressos como a porcentagem do controle usando a seguinte fórmula: Taxa de viabilidade celular (%) = (DO das células tratadas/DO do controle) x 100%.

3.8.4 Ensaio de proliferação celular

A proliferação celular foi quantificada usando o ensaio de sulforodamina B (SRB), que mede o conteúdo de proteína celular (Pauwels *et al.*, 2003). Inicialmente, as culturas foram lavadas e fixadas em TCA 50% por 45 minutos a 4 °C. Em seguida, as culturas foram lavadas cinco vezes com água destilada. Posteriormente, foi adicionado 0,4% de SRB, e as culturas foram incubadas no escuro em temperatura ambiente por 30 minutos. As células foram então lavadas cinco vezes com ácido acético a 1% para remover o corante não complexado das proteínas, e o SRB foi eluido com Tris 10 mM. A DO foi medida a 530 nm usando um leitor de microplacas (SpectraMax190). Os dados foram calculados com o software Prism 5.0 (Prism GraphPad Software, San Diego, EUA) e expressos como porcentagem do controle

com a seguinte fórmula: Taxa de proliferação celular (%) = (DO das células tratadas/DO do controle) × 100%.

3.8.5 Análise estatística

A análise estatística dos ensaios de citotoxicidade foi realizada usando ANOVA unidirecional seguida pelo teste *post hoc* de Tukey, quando apropriado. Os resultados são expressos como a média ± erro padrão da média. As diferenças foram consideradas significativas com P < 0,05 usando o software GraphPad Prism 8.0 (Prism GraphPad Software, San Diego, EUA).

4. Resultados e discussão

4.1 Análise físico-química da *Durvillaea antarctica*

A Tabela 2 apresenta a composição nutricional da alga marinha em estudo. A umidade foi determinada após os processos de lavagem, Trituração e secagem em estufa. O teor de umidade encontrado, de 14,22%, é superior ao reportado por Caballero e Olivares (2021) para *Durvillaea antarctica*, que foi de 8,15%. O teor de lipídeos, determinado após a extração pelo método de Bligh & Dyer, foi de 0,74% em peso seco, conforme apresentado na Tabela 2. Esse valor está em concordância com outros estudos reportados na literatura (Ortiz *et al.*, 2006; Caballero; Olivares, 2021). O teor de proteína determinado no presente estudo foi de 6,8% em peso seco, um valor inferior ao reportado por Ortiz *et al.*, (2006) e Caballero e Olivares (2021), que encontraram valores entre 10,4% e 11,6% em peso seco para a fração proteica de *Durvillaea antarctica*. No entanto, é sabido que o teor de proteína em algas marrons geralmente varia entre 5% e 15%. Além disso, fatores como o grau de maturidade, a localização e a época de coleta influenciam diretamente esses valores (Mateluna *et al.*, 2020).

Tabela 2 – Composição físico-química da macroalga *Durvillaea Antarctica*

Nutrientes	Percentual (%)
Umidade	14,22 ± 0,17
Lipídeos	0,74 ± 0,11
Proteína	6,80 ± 1,35
Carboidratos	57,00 ± 0,20
Cinzas	20,09 ± 0,10
Fibras	1,16 ± 0,15

Nota: Média ± desvio padrão (n=3).

Fonte: Este trabalho.

Os carboidratos foram os nutrientes mais abundantes em *Durvillaea antarctica*, representando 57% do peso seco (Tabela 2). Segundo Caballero e Olivares (2021), o teor de polissacarídeos em macroalgas pode variar de 4% a 76% em peso seco, dependendo da estação do ano e da espécie. Polissacarídeos como ágar, alginato e carragenana, extraídos de macroalgas, correspondem a mais de 50% do mercado global de hidrocoloides (Caballero; Olivares, 2021). Entre os carboidratos, as fucoidanas destacam-se como polissacarídeos sulfatados presentes na parede celular de algas marrons, compostas por L-fucose e grupos sulfato (Yang *et al.*, 2021). A busca por biomassas ricas em hidrocoloides como a fucoidana deve-se às suas propriedades tecnológicas, como a formação de hidrogeis, que podem ser utilizadas como agentes espessantes, gelificantes ou formadores de filme em revestimentos farmacêuticos e embalagens (Caballero; Olivares, 2021). O teor de cinzas encontrado foi de 20,09% em base seca, valor semelhante ao reportado em outros estudos (Ortiz *et al.*, 2006; Caballero; Olivares, 2021). Por outro lado, o teor de fibra bruta foi inferior aos valores previamente reportados, que variam de 3,11% a 4,22% (Uribe *et al.*, 2019). Sabe-se que a composição nutricional das algas varia significativamente conforme a época de colheita. Por exemplo, macroalgas coletadas na primavera apresentam maior teor de proteínas e cinzas, enquanto as coletadas no verão apresentam níveis mais altos de lipídeos e fibras. No inverno, observa-se maior proporção de carboidratos (Mansilla; Ávila, 2011).

Os resultados dos elementos encontrados na alga podem ser observados na Tabela 3. Em ordem decrescente as concentrações obtidas na alga *Durvillaea antarctica* foram Na>K>Fe>Zn>Ni>Cr. O Cu apresentou concentração abaixo do limite de detecção do método (<2,8 mg.kg⁻¹). O Cr é um elemento necessário para

organismos em pequenas quantidades. Sua alta concentração em água e no solo pode provocar inúmeros efeitos tóxicos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos nas plantas e representar sérios riscos à saúde humana por meio das cadeias alimentares (Shahid *et al.*, 2017). Enquanto o Cr (III) é a espécie mais estável e menos tóxica, o Cr (VI) altamente solúvel em água é considerado altamente tóxico e mutagênico, atravessando prontamente a membrana das células eucarióticas e procarióticas e gerando radicais livres com estresse oxidativo (Zou *et al.*, 2020).

O Ni apresentou baixa concentração e em pequenas quantidades é essencial para algumas enzimas, mas em concentrações maiores pode ser tóxico, afetando a saúde humana, causando distúrbios renais e pulmonares, dermatites e danos gastrointestinais (Guarin-Romero *et al.*, 2019). O Zn e o Fe apresentaram-se em pequenas concentrações na alga. São micronutrientes essenciais em muitos organismos vivos, incluindo algas, uma vez que participam da atividade enzimática e de outras funções biológicas como regulação do crescimento, fotossíntese e reprodução (Chugh *et al.*, 2022). As algas marrons são as mais eficientes na bioadsorção de metais, uma vez que suas paredes celulares são ricas em alginatos, os quais têm alta afinidade por cátions divalentes e os polissacarídeos sulfatados explicam a absorção de cátions trivalente (Cid *et al.*, 2015).

Já Na e K foram os elementos que apresentaram as maiores concentrações nessa alga. Estudos mostram que essas algas podem conter concentrações muito altas de K em suas células, frequentemente superiores a $20.000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de peso seco. Isso reflete a necessidade desse elemento para a manutenção da atividade fisiológica em ambientes marinhos. Em comparação com algas verdes e vermelhas, as algas marrons costumam ter uma maior capacidade de acumular K, o que está relacionado ao seu ambiente natural, uma vez que a regulação osmótica é crítica para a sobrevivência (Chi *et al.*, 2022; Meng *et al.*, 2022). O Na é outro elemento importante nas algas pois participa do transporte ativo de nutrientes e outros íons através das membranas celulares. Muitas proteínas de membrana, como bombas de Na, ajudam a manter os gradientes eletroquímicos que são necessários para o transporte de outros nutrientes, como nitrato e fosfato, para dentro das células. Em sinergia com o K, o Na ajuda a manter o equilíbrio iônico interno das células, essencial para a sobrevivência das algas em ambientes de alta salinidade (Chugh *et al.*, 2022).

Tabela 3 – Concentrações dos elementos presentes na alga *Durvillaea antarctica*

Metais	<i>Durvillaea antarctica</i> (mg.kg⁻¹)
Cr	4,18 ± 0,27
Cu	<LD
Fe	20,5 ± 1,1
K	23,836 ± 1,408
Na	42,664 ± 2,568
Ni	6,11 ± 0,31
Zn	9,81 ± 0,85

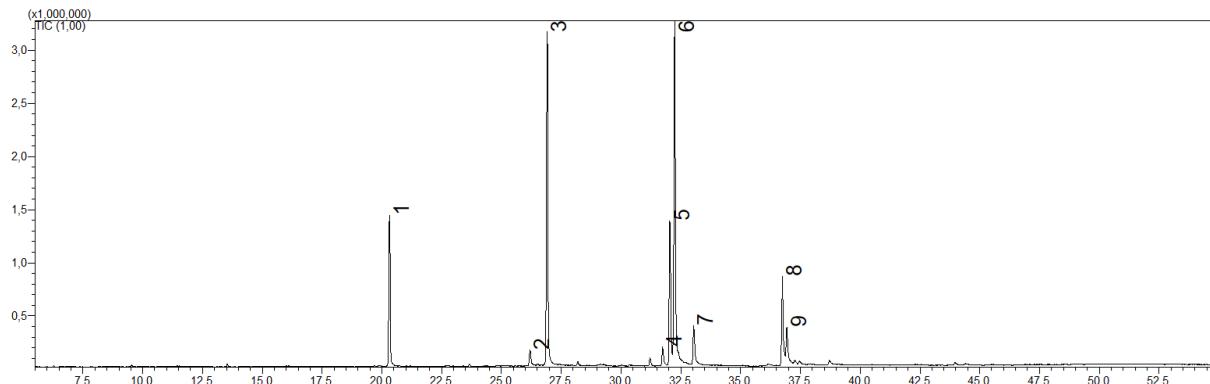
Nota: <LD é equivalente à abaixo do limite de detecção. Média ± desvio padrão (n=3).

Fonte: Este trabalho.

O cromatograma dos ácidos graxos pode ser observado na Figura 7, com os componentes descritos na Tabela 4. A análise por CG-EM revelou uma predominância de ácidos graxos poli-insaturados na composição da *Durvillaea antarctica*. As condições ambientais extremas da região subantártica, como baixa temperatura da água, disponibilidade limitada de nutrientes, alta exposição à radiação ultravioleta, variações no fotoperíodo e elevada salinidade, promovem o desenvolvimento de estratégias de adaptação, alterando a composição bioquímica da alga (Berneira *et al.*, 2021). A ativação de metabólitos secundários nessas macroalgas resulta em um aumento na produção de lipídios, esterois, polissacarídeos, aminoácidos, flavonoides e terpenoides (Berneira *et al.*, 2021).

Os ácidos graxos saturados identificados foram mirístico, palmítico e esteárico, corroborando estudos anteriores realizados com algas coletadas na região do Chile (dos Santos *et al.*, 2019; Filho *et al.*, 2023). Entre os ácidos graxos poli-insaturados encontrados estão os ácidos docosapentaenoico, linoleico, araquidônico e eicosapentaenoico, em concordância com relatos prévios (dos Santos *et al.*, 2021). A alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados contribui para a estabilidade das membranas celulares em baixas temperaturas (de Carvalho; Caramujo, 2018). Além disso, fatores como a exposição à radiação solar e o estresse hiperosmótico podem influenciar a variação na concentração desses ácidos graxos (Kumar; Sengar; Sahi, 2014).

Figura 7 – Cromatograma dos ácidos graxos da alga *Durvillaea antarctica*



Fonte: Este trabalho.

Tabela 4 – Ácidos graxos encontrados na alga *Durvillaea antarctica*

Pico	Compostos	Tempo de retenção (min)	Classificação
1	Ácido mirístico	20,319	Saturado
2	Ácido palmitoleico	26,197	Monoinsaturado
3	Ácido palmítico	26,915	Saturado
4	Ácido docosapentaenoico	31,743	Poli-insaturado
5	Ácido linoleico	32,045	Poli-insaturado
6	Ácido elaidico	32,245	Monoinsaturado
7	Ácido esteárico	33,043	Saturado
8	Ácido araquidônico	36,749	Poli-insaturado
9	Ácido eicosapentaenoico	36,935	Poli-insaturado

Fonte: Este trabalho.

A classe de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) de grande interesse para a saúde humana é a de ômega-3 essencial, nesse caso, representado pelo ácido linoleico, que não é sintetizado pelos organismos humanos (dos Santos *et al.*, 2017). Além disso, estudos sobre essa classe de PUFA mostram que eles podem estar relacionados com a redução do risco de doenças cardíacas (Hammad; Pu; Jones, 2016) e câncer (Haycock *et al.*, 2023). Por fim, o ácido graxo monoinsaturado

encontrado foi o ácido palmitoleico e ácido graxo trans encontrado foi o elaidico, isômero do ácido graxo oleico.

Todos os ácidos graxos encontrados na *Durvillaea antarctica* são de extrema relevância. Dentre suas principais propriedades é possível citar que o ácido mirístico, o qual é utilizado na síntese de compostos lipídicos e é importante na modificação de proteínas para ancorá-las na membrana celular (Javid *et al.*, 2020). O ácido palmitoleico tem sido reconhecido por seu papel potencial na regulação de doenças metabólicas, como diabetes e doenças cardiovasculares. Além disso, ele atua como uma lipocina, regulando processos metabólicos como a sensibilidade à insulina (Bermudéz *et al.*, 2022).

O ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais comum no corpo humano e está envolvido em funções fisiológicas cruciais, incluindo a manutenção das propriedades físicas das membranas celulares (Carta *et al.*, 2017). O ácido linoleico desempenha um papel essencial na saúde cardiovascular. Estudos mostram que dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados, como o linoleico, podem reduzir o conteúdo de ácidos graxos saturados no soro, contribuindo para uma melhor saúde metabólica (Naughton *et al.*, 2016). O ácido docosapentaenoico é um ácido graxo ômega-3 que tem sido estudado por suas propriedades anti-inflamatórias e sua contribuição para a saúde cardiovascular (Watanabe; Tatsuno, 2021).

O ácido elaidico é um ácido graxo trans, cuja presença no soro tende a diminuir com a perda de peso significativa, como observado após cirurgias bariátricas (Wrzosek *et al.*, 2022). O ácido esteárico é um ácido graxo saturado que, diferentemente de outros ácidos graxos saturados, pode ter menos impacto negativo na saúde cardiovascular. Estudos sugerem que ele pode ser convertido em ácido oleico no organismo, o que pode mitigar potenciais efeitos adversos (van Rooijen; Mensink, 2020). O ácido araquidônico é um precursor importante de eicosanoides, que são mediadores inflamatórios no corpo. Ele desempenha um papel essencial na resposta inflamatória e em várias funções fisiológicas, mas seu excesso pode estar associado a processos inflamatórios exacerbados (Denisenjo *et al.*, 2015). O ácido eicosapentaenoico (EPA) este ácido graxo ômega-3 é amplamente estudado por suas propriedades anti-inflamatórias e seu papel na prevenção de doenças cardiovasculares. O EPA é essencial na produção de resolvinas, compostos que possuem atividade anti-inflamatória (Watanabe; Tatsuno, 2021).

4.2 Extração da fucoidana

A partir de 25 gramas de *Durvillaea antarctica*, foi obtido um rendimento de 5,08%, o que está de acordo com o valor previamente relatado por Yang *et al.* (2021), que encontraram um rendimento de 5,9% para a mesma alga. Esse resultado também é consistente com o observado por Li *et al.* (2021), que relataram que a porcentagem de fucoidanas em algas marrons varia entre 3,94% e 28,3%. Considerando o baixo rendimento obtido, a extração de fucoidana não seria viável para a produção de nanofibras em escala significativa. Para contornar essa limitação, foi adquirida fucoidana comercial da Sigma-Aldrich®, permitindo a continuidade da produção de nanofibras na próxima etapa do estudo.

4.3 Técnicas de caracterização

4.3.1 Caracterização das soluções poliméricas viscosidade e condutividade

A escolha do solvente é essencial para determinar a solubilidade do material, a viscoelasticidade, a condutividade elétrica e a capacidade de eletrofiação da solução, além de influenciar a produtividade e a morfologia das nanofibras (Luduvico *et al.*, 2024). A literatura também aponta que a viscosidade e a concentração do polímero são diretamente proporcionais, sendo fatores cruciais na formação de fibras durante a eletrofiação (Li *et al.*, 2021). Nesse contexto, foi observado que a incorporação de fucoidana aumentou a viscosidade aparente das soluções poliméricas (Tabela 5). Com exceção da fibra contendo 30% de zeína + 35% de fucoidana, que apresentou uma viscosidade menor em comparação às outras fibras, mas ainda superior à do controle contendo apenas zeína. As fibras com 30% de zeína + 25% de fucoidana e 30% de zeína + 30% de fucoidana apresentaram viscosidades semelhantes, com médias estatisticamente não significativas entre si. Ambas diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) das demais soluções. A partir disso, é possível observar que as concentrações de 25% e 30% de fucoidana foram as ideais para alcançar a viscosidade adequada à eletrofiação.

Tabela 5 – Viscosidade das soluções poliméricas de 30% (p/v) de zeína com fucoidana (0, 25, 30, e 35% p/p)

Tratamento	Viscosidade (mPa/s)
Zeína 30% (controle)	4,65 ± 0,28 ^c
Zeína 30% + 25% Fucoidana	15,34 ± 0,44 ^a
Zeína 30% + 30% Fucoidana	15,16 ± 0,56 ^a
Zeína 30% + 35% Fucoidana	11,93 ± 0,07 ^b

Nota: As letras a, b e c indicam significância estatística ($p < 0,05$). Média ± desvio padrão (n=3).
Fonte: Este trabalho.

A condutividade reflete a densidade e a repulsão das cargas na superfície do jato durante a eletrofiação, sendo responsável pelo grau de alongamento e estiramento do jato devido à maior instabilidade de chicoteamento (Xue *et al.*, 2019). Esse parâmetro é influenciado principalmente pelo tipo de polímero, solvente e pela presença de sais ionizáveis (Figen, 2020). Além disso, a condutividade elétrica impacta a passagem da carga elétrica pela solução. Este parâmetro, em conjunto com a viscosidade, a tensão superficial e a tensão aplicada, estão fortemente relacionadas à formação do cone de Taylor (Bonakdar; Rodrigue, 2024).

Na Tabela 6, observam-se os resultados de condutividade elétrica para as diferentes formulações de zeína e fucoidana. A adição de 25% e 35% de fucoidana à solução aumentou a condutividade, enquanto a adição de 30% resultou em uma diminuição desse valor. Embora a solução contendo 30% de zeína + 35% de fucoidana tenha exibido alta condutividade e uma viscosidade de $11,93 \pm 0,07$, não foi possível eletrofiá-la. Isso ocorre porque uma condutividade elevada pode reduzir o raio de curvatura do cone de Taylor, dificultando o início da instabilidade de flexão e, consequentemente, o processo de eletrofiação (Xue *et al.*, 2019). Dessa forma, apenas os dados referentes aos demais tratamentos serão apresentados e discutidos.

Tabela 6 – Condutividade elétrica das soluções poliméricas de 30% (p/v) de zeína com fucoidana (0, 25, 30, e 35% p/p)

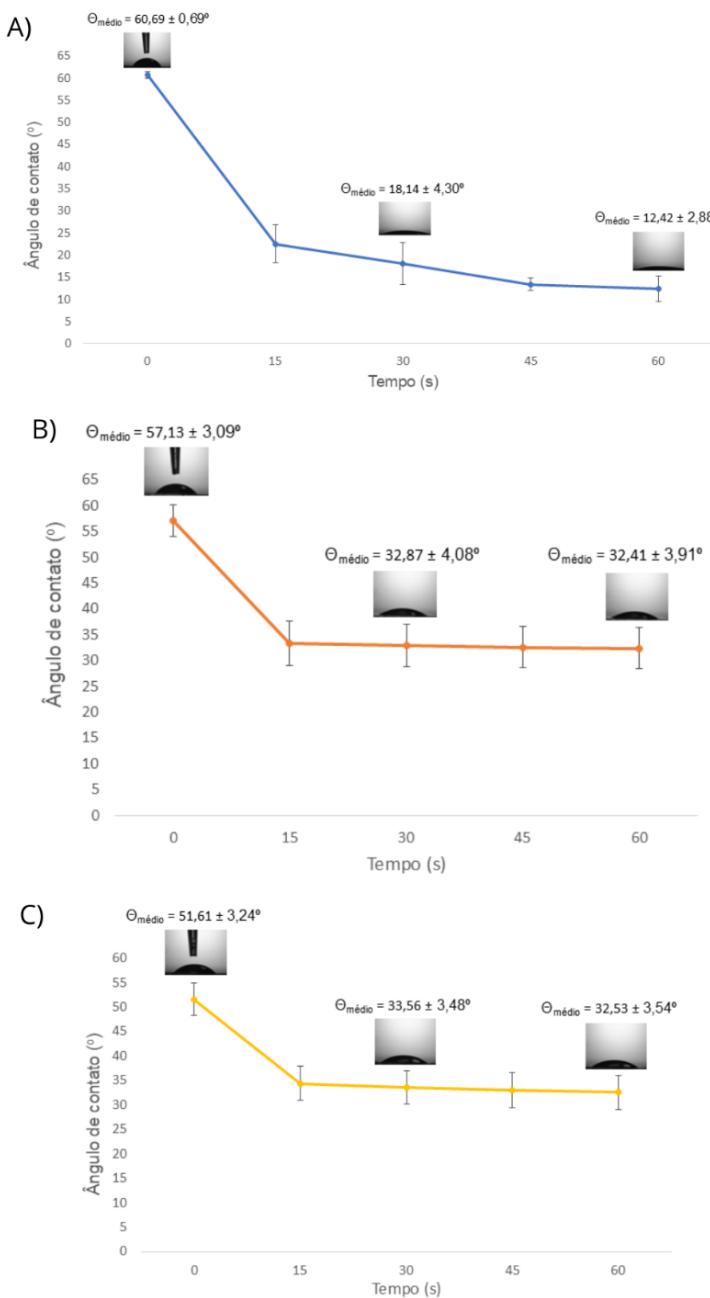
Tratamento	Condutividade (μs/cm)
Zeína 30% (controle)	8,31 ± 0,14 ^c
Zeína 30% + 25% Fucoidana	8,57 ± 0,07 ^b
Zeína 30% + 30% Fucoidana	7,82 ± 0,02 ^d
Zeína 30% + 35% Fucoidana	8,99 ± 0,12 ^a

Nota: As letras a, b e c indicam significância estatística ($p < 0,05$). Média ± desvio padrão (n=3).
Fonte: Este trabalho.

4.3.2 Ângulo de contato

Os ângulos de contato das fibras ultrafinas de zeína com fucoidana estão apresentados na Figura 8 e na Tabela 7. A molhabilidade das fibras ultrafinas foi avaliada no momento inicial do contato da gota de água com a fibra, e após 30 e 60 segundos. Entre os tratamentos analisados, observou-se que a maior porcentagem de fucoidana nas fibras resultou em uma redução da hidrofilicidade.

Figura 8 – Ângulo de contato das fibras A) 30% zeína (controle) B) 30% zeína + 25% fucoidana e C) 30+ zeína + 30% fucoidana



Fonte: Este trabalho.

Na nanofibra controle (30% zeína) é possível observar que houve uma diferença estatística significativa ($p<0,05$) nos 3 diferentes tempos analisados (0, 30 e 60 segundos). Enquanto que nas fibras com 30% zeína + 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana, não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) nos tempos de 30 e 60 segundos. O maior ângulo de contato encontrado foi do tratamento da fibra controle com 30% de zeína, apresentando um valor inicial de $60,69^\circ$, mas também foi a que apresentou o menor valor final, sendo de $12,42^\circ$, sendo este o mais hidrofílico. Após 60 segundos de contato com a fibra, observou-se redução da hidrofilicidade para as fibras que continham fucoidana nas concentrações de 25% e 30%. Entretanto, apesar da diminuição, as mesmas ainda apresentaram caráter hidrofílico.

A hidrofilicidade de uma superfície é determinada pelo ângulo de contato: quando o ângulo é menor que 90° , a superfície é considerada hidrofílica; valores superiores a 90° indicam uma superfície hidrofóbica (Yalcinkaya *et al.*, 2017). Superfícies produzidas por nanofibras apresentam maior capacidade de adsorção celular devido às suas proporções, em comparação com superfícies formadas por fibras convencionais (Tiyek *et al.*, 2019). Nanofibras obtidas por eletrofiação, com sua grande área superficial e configuração altamente porosa, oferecem excelente adesão e proliferação de células da pele, como fibroblastos e queratinócitos. Essas características favorecem a secreção de componentes essenciais da matriz extracelular, como colágeno e fatores de crescimento, promovendo a síntese de novas matrizes extracelulares naturais e o reparo de tecidos danificados (Kenry; Lim, 2017). Tendo em vista os resultados apresentados, é possível observar que as nanofibras apresentaram uma característica hidrofílica, os quais podem ser úteis para a adesão e a proliferação celular (Wang *et al.*, 2017).

Tabela 7 – Ângulo de contato das fibras ultrafinas de zeína com diferentes concentrações de fucoidana após 0, 30 e 60 segundos de contato da membrana com a água

Fibras	Ângulo de contato (°)		
	0 (s)	30 (s)	60 (s)
Zeína 30% (controle)	$60,69 \pm 0,69^a$	$18,14 \pm 4,30^b$	$12,42 \pm 2,88^c$
Zeína 30% + 25% Fucoidana	$57,13 \pm 3,09^a$	$32,87 \pm 4,08^b$	$32,41 \pm 3,91^b$
Zeína 30% + 30% Fucoidana	$51,61 \pm 3,24^a$	$33,56 \pm 3,48^b$	$32,53 \pm 3,54^b$

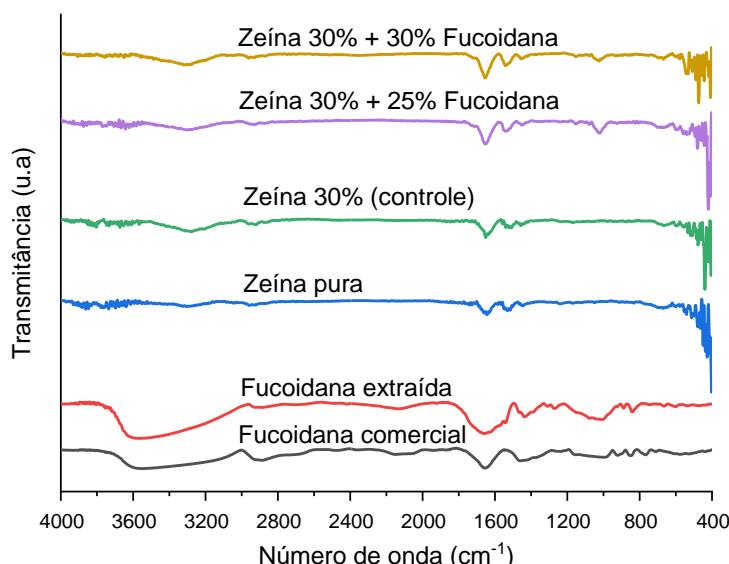
Nota: As letras a, b e c indicam significância estatística ($p < 0,05$). Esta análise estatística foi realizada para os diferentes tempos de cada fibra. Média ± desvio padrão ($n=3$).

Fonte: Este trabalho.

4.3.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (IR-TF)

Na Figura 9, são apresentados os espectros de IR-TF-ATR dos materiais de partida e das fibras. O espectro da zeína exibiu bandas características associadas às amidas I, II e III, com picos em 1642 cm^{-1} para o alongamento C=O, 1526 cm^{-1} para a flexão N-H e 1224 cm^{-1} para o alongamento C-N, respectivamente. Além disso, a banda em 3308 cm^{-1} corresponde ao estiramento do grupo -NH_2 na zeína (Ali *et al.*, 2014). O espectro da fucoidana mostrou bandas na região de 3500 cm^{-1} a 2900 cm^{-1} , sendo a primeira indicativa de uma ligação O-H e a segunda de uma ligação C-H. Outra banda foi observada em torno de 1600 cm^{-1} , relacionada a grupos carbonila presentes no ácido urônico. A banda entre $1220\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$ é atribuída à ligação S=O, sugerindo a presença de sulfato. A região de $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ representa a ligação C-O dos polissacarídeos (Yuan; Macquarie, 2015), enquanto uma banda em torno de 840 cm^{-1} indica a flexão C-O-S (Chen *et al.*, 2021). As mesmas bandas foram observadas tanto na fucoidana extraída quanto na fucoidana comercial, indicando assim a extração bem sucedida da mesma. Nas fibras 30% zeína + 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana, foram detectadas bandas referentes a ambos os compostos. Já na fibra controle contendo 30% de zeína, foram identificadas bandas características da zeína.

Figura 9 – IR-TF-ATR dos materiais de partida (zeína e fucoidana comercial), fucoidana extraída, nanofibras 30% zeína (controle), 30% zeína + 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana

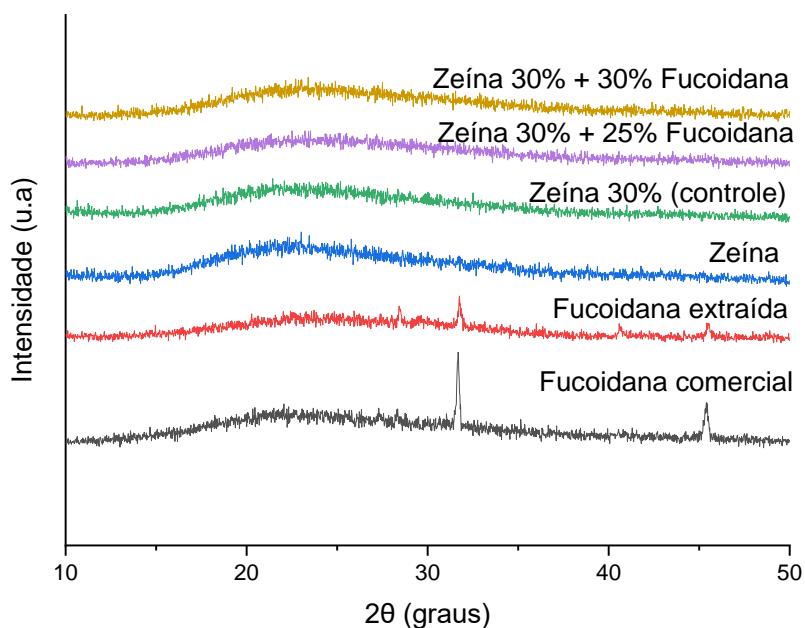


Fonte: Este trabalho.

4.3.7 Difração de Raio-X

Na Figura 10 é possível observar os espectros de DRX. A fucoidana comercial e extraída exibiram picos em 31° e 45° , apresentando baixa cristalinidade geral, o que sugere que se trata de um polímero semicristalino, o que é consistente com o relatado anteriormente por Saravana *et al.* (2016). A zeína demonstrou um padrão de fundo difuso com um halo de difração, indicando um estado amorfo, similar ao reportado por Miri *et al.* (2020). Com relação às nanofibras, os difratogramas demonstraram que o processo de eletrofiação não resultou em um aumento da cristalinidade, levando a uma morfologia amorfa em todas as concentrações utilizadas (Zhang *et al.*, 2017).

Figura 10 – Difratogramas de Raio-X dos materiais de partida (zeína e fucoidana comercial), fucoidana extraída, nanofibras 30% zeína (controle), 30% zeína + 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana



Fonte: Este trabalho.

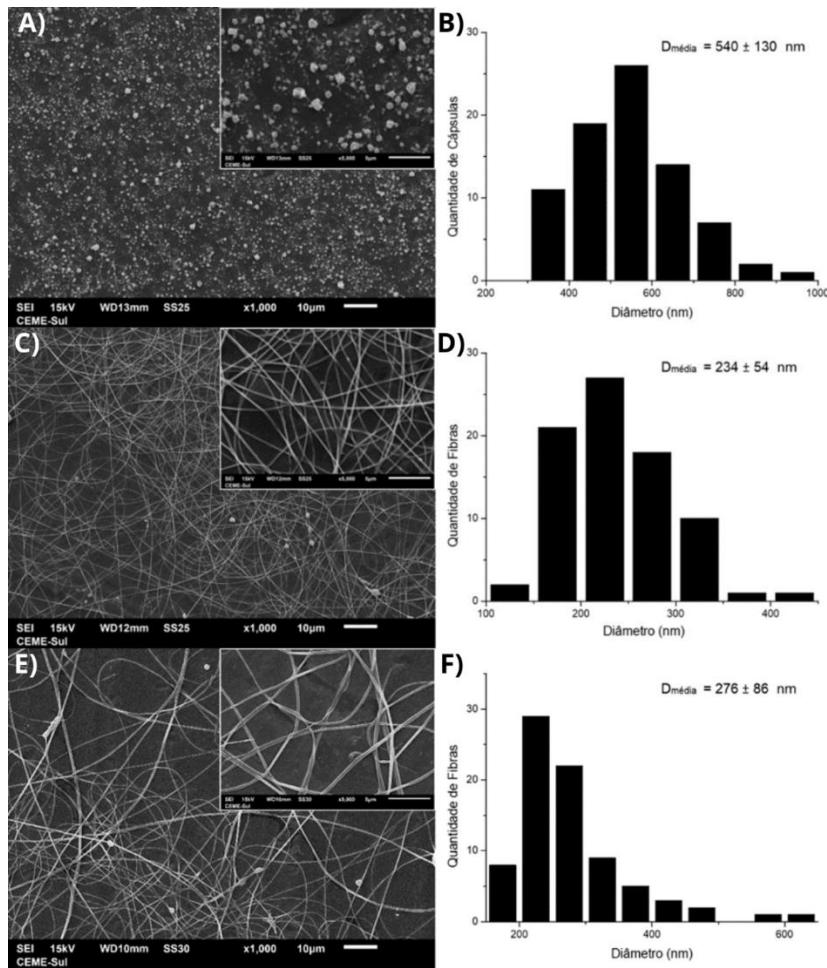
4.3.8 MEV e Distribuição de tamanho

As morfologias e os diâmetros médios das fibras de zeína controle, a incorporada com 25% fucoidana e a incorporada com 30% fucoidana estão apresentadas na Figura 11. Sabe-se que os parâmetros da solução, como viscosidade, condutividade elétrica e tensão superficial, afetam diretamente as dimensões e a morfologia da fibra (Santos *et al.*, 2014). Além disso, o diâmetro das nanofibras também pode afetar a liberação de medicamentos, modular a adesão

celular, a migração, a proliferação, a diferenciação, a absorção de siRNA e o silenciamento de genes, bem como até mesmo o reparo e a regeneração de tecidos (Chen *et al.*, 2021).

Conforme ilustrado na Figura 11, em relação a morfologia, foi possível observar que a fibra controle (Figura 11A) apresentou a presença de partículas no formato de cápsulas (Luduvico *et al.*, 2024), com distribuição de tamanho amplamente disperso, com tamanho médio de 540 ± 130 , enquanto que as nanofibras incorporadas com 25% e 30% fucoidana apresentaram formato de fita (Mercante; Côrrea, 2023), com tamanho médio de 234 ± 54 nm e 276 ± 54 nm, respectivamente. A adição de fucoidana aumentou a viscosidade da solução, quando comparada com a nanofibra controle, o que aumentou o emaranhamento das cadeias entre as estruturas poliméricas. Esse emaranhamento supera a tensão superficial na ponta do capilar e resulta em nanofibras uniformes com diâmetros menores (Haider *et al.*, 2013). O mesmo foi reportado por Puigmal *et al.*, (2023), onde a adição de fucoidana também reduziu o diâmetro das nanofibras. A viscosidade também está intimamente ligada com a morfologia das fibras, conforme relatado por Kayaci e Uyar (2012), uma baixa viscosidade resulta em uma morfologia esférica. Com o aumento da viscosidade, ocorre o aumento do emaranhado da cadeia polimérica e essas esferas são eliminadas. Dessa forma, o jato polimérico é completamente esticado e as nanofibras são formadas em formato de fita (Kayaci; Uyar, 2012). Portanto, é possível observar que a adição de fucoidana na solução polimérica melhorou significativamente a morfologia das fibras, alterando-as para o formato de fita, assim como reduziu o diâmetro das mesmas, quando comparadas com a fibra controle, o que torna o estudo de sua atividade biológica viável, tendo em vista que já foi relatado na literatura que fibras menores que 100 nm apresentaram respostas tóxicas *in vitro* (Tammina *et al.*, 2017).

Figura 11 – Morfologias das fibras ultrafinas com 30% de zeína e sua respectiva distribuição de tamanho: fibra de zeína 30% e 0% de fucoidana (controle) (a-b), fibra de zeína 30% e com 25% de fucoidana (c-d) e fibra de zeína 30% e com 30% de fucoidana (e-f). Amplitude de 1000x



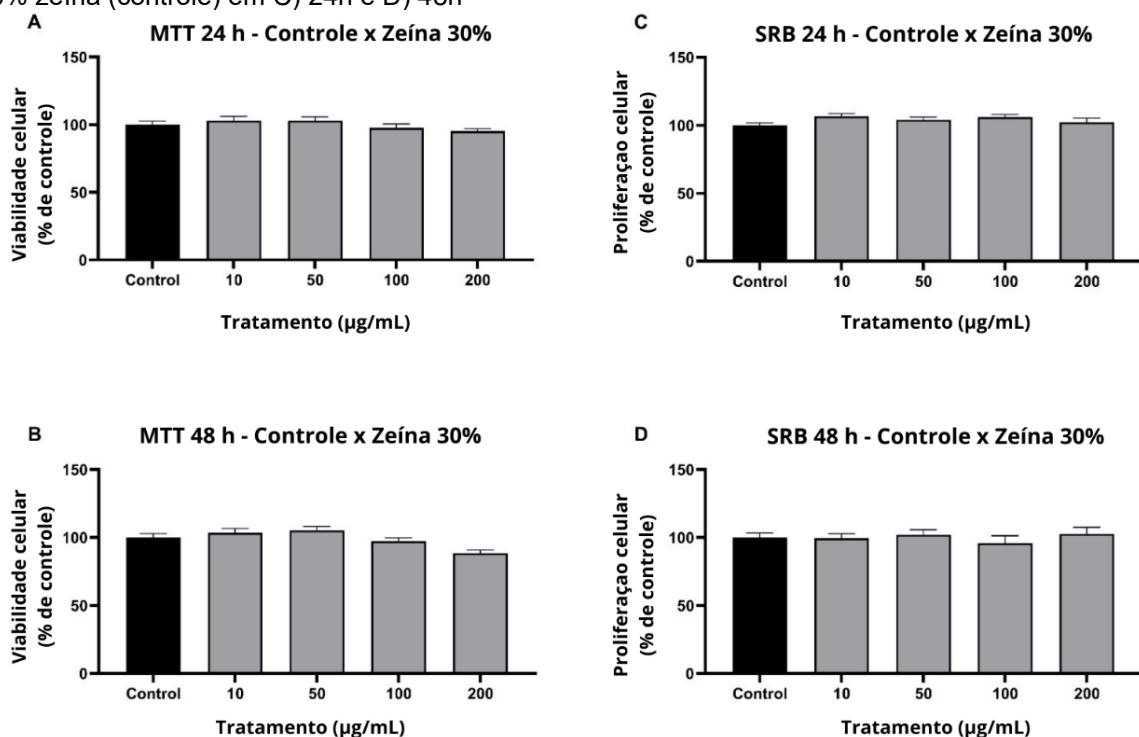
Fonte: Este trabalho.

4.3.9 Citotoxicidade

A toxicidade e a biocompatibilidade das nanofibras são preocupações importantes antes de prosseguir com o estudo *in vivo*. Tendo em vista que a futura aplicação das nanofibras é como adesivo cicatrizante para pele, a fim de viabilizar esta aplicação, para os ensaios de citotoxicidade foi utilizada uma linhagem de fibroblastos advindos de origem subcutânea. Com isso, para avaliar a citotoxicidade das fibras obtidas, foram realizados dois ensaios, o ensaio de MTT para avaliar a atividade mitocondrial, corando as células que estão metabolicamente ativas. Este teste é centrado na produção metabólica de NAD(P)H, que é usado como um marcador substituto para morte celular, atividade citostática ou inibição metabólica por compostos de teste (Stockert *et al.*, 2018). Também foi realizado o ensaio de SRB, o

qual cora as proteínas celulares, sendo utilizado como uma análise de proliferação celular (Vajrabhaya; Korsuwannawong, 2018). Inicialmente, foi avaliada a toxicidade da fibra controle contendo apenas zeína nos tempos de 24 e 48h. Na Figura 12, é possível observar que não houve nenhuma diferença estatística quando comparado às células controle em ambos os testes em nenhuma das concentrações testadas.

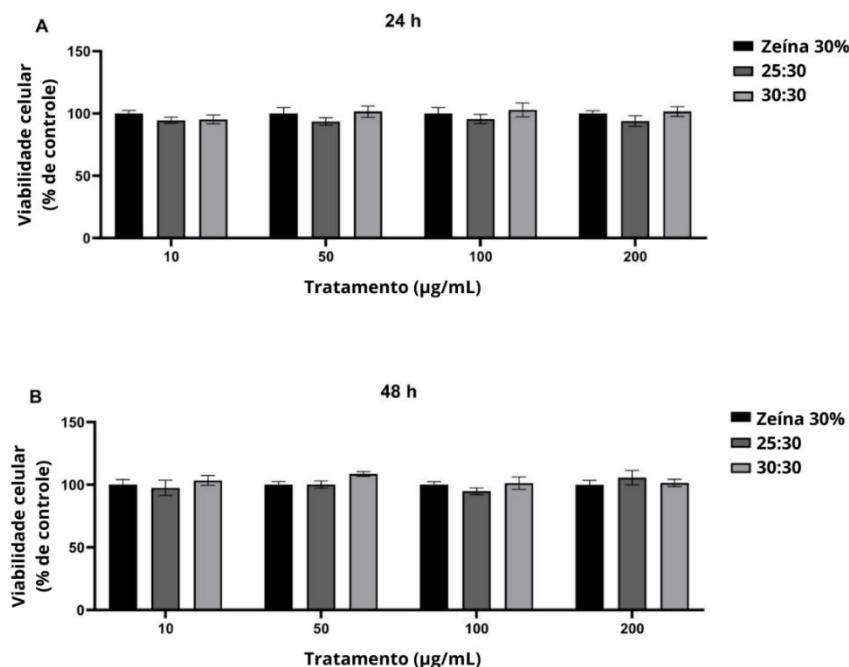
Figura 12 – Análise de MTT da fibra 30% zeína (controle) em A) 24h e B) 48h. Análise de MTT da fibra 30% zeína (controle) em C) 24h e D) 48h



Fonte: Este trabalho.

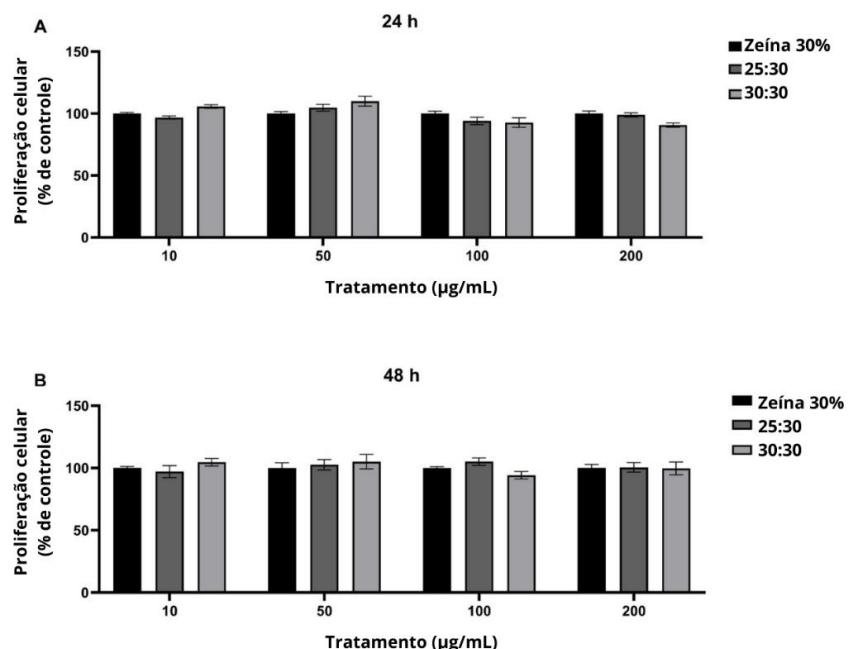
Após descartar uma possível toxicidade advinda da zeína, para avaliar o efeito citotóxico das fibras contendo fucoidana, fibroblastos de camundongo L929 foram expostos a fibras contendo 30% zeína e 0% (controle), 25% e 30% de fucoidana em concentrações de 10, 50, 100 e 200 µg/mL por 24 e 48 horas. Os resultados obtidos indicam que as fibras não alteram a viabilidade (Figura 13) ou a proliferação celular (Figura 14), sugerindo um efeito não citotóxico significativo em fibroblastos saudáveis. Tais resultados estão de acordo com o reportado anteriormente por Ahmad e colaboradores (2021), os quais reportaram que extratos contendo fucoidana nas mesmas concentrações utilizadas neste trabalho não apresentaram sinais de citotoxicidade nas células de macrófagos humanos após a incubação de 24 e 48 h.

Figura 13 – Análise de MTT das fibras 30% zeína (controle), 30% zeína+ 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana em A) 24h e B) 48h.



Fonte: Este trabalho.

Figura 14 – Análise de SRB das fibras 30% zeína (controle), 30% zeína+ 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana em A) 24h e B) 48h.



Fonte: Este trabalho.

Conforme relatado por Senni *et al.*, (2006), as fucoidanas têm o potencial de aumentar a proliferação de fibroblastos dérmicos e a deposição de colágeno (Senni *et al.*, 2006). Além disso, Hao e colaboradores (2020), relataram que a adição de fucoidana em esponjas biomultifuncionais apresentou grande potencial como curativos para a terapia de reparo de pele de espessura total (Hao *et al.*, 2020). Tendo isso em vista e considerando os resultados obtidos com os ensaios de viabilidade e proliferação celular, é possível concluir que os estudos citotóxicos das nanofibras de zeína e fucoidana são viáveis. Dessa forma, os resultados obtidos corroboram com a futura aplicação das nanofibras de zeína e fucoidana para promover a cicatrização de feridas.

5. Considerações finais

Esta dissertação abordou a extração de fucoidanas da alga *Durvillaea antarctica* e a obtenção de nanofibras contendo fucoidana e zeína nas concentrações de zeína 30% (controle), 30% zeína + 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana. Devido ao baixo rendimento da extração, foi necessário utilizar fucoidana comercial para viabilizar a produção das nanofibras. Os resultados mostraram que as fibras apresentaram comportamento hidrofílico, como evidenciado pela análise do ângulo de contato, uma característica promissora para adesão e proliferação celular. Além disso, a adição de fucoidana à solução polimérica de zeína e ácido fórmico reduziu o diâmetro das nanofibras de 540 ± 130 nm em relação a fibra controle, reduzindo para 234 ± 54 nm e 276 ± 54 nm, indicando o potencial para estudos biológicos pois fibras menores que 100 nm apresentaram respostas tóxicas *in vitro*. Além disso, a adição de fucoidana também aprimorou a morfologia das fibras, pois com o aumento da viscosidade da solução polimérica, ocorreu um aumento do emaranhado da cadeia polimérica e as esferas foram eliminadas, transformando-as em uma morfologia no formato de fita. Dessa forma, as nanofibras mostram-se viáveis para um futuro estudo da aplicação biotecnológica como adesivos cicatrizantes para pele humana.

6. Desempenho acadêmico

Disciplinas	Rendimentos
Docência Orientada I	A
Seminários I	S
Metodologia de Pesquisa e Redação Científica	A
Tópicos Especiais em Bioquímica	A
Planejamento e Gestão de Evento Científico e Tecnológico em Biotecnologia	A
Seminários I	S
Engenharia De Software Para Bioinformática e Aprendizagem De Máquina	A
Lipidômica	A

7.1 Trabalhos correlatos

7.1.1 Trabalhos publicados desde o ingresso no mestrado

1. Testoni, S.; da Silva, A. S.; de Lima, N. P. K.; Aguiar, M. P.; Santos, R. S.; Leitzke, A. F.; Miguel, P.; Camargo, F. A. O.; Carreño, N. L. V.; Mariotti, K. C.; Ortiz, R. S.; Pereira, C. M. P. DISCRIMINAÇÃO DE SOLOS COLETADOS EM CENA DE CRIME SIMULADA. *Revista Ifes Ciência*, v. 9, n. 3, p. 01-18, 2023.
2. Leitzke, A. F., Bueno, D. T., Poletti, T., Maron, G. K., Lopes, B. V., Morais, E. V., Inacio, A. P. O. L.; Silveira, C. I.; Silva, J. P.; Dias, D.; Carreño, N. L. V.; Pereira, C. M. P. D. The effectiveness of natural indigo/kaolinite composite powder in the development of latent fingermarks. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, v. 14, n. 1, 2024. DOI: 10.1186/s41935-024-00392-3.
3. Bueno, D. T., Leitzke, A. F., Crizel, R. L., Jansen-Alves, C., Bertizzolo, E. G., da Silva, J. P., Sejanes, G. Q., Mariotti, K. de C., & de Pereira, C. M. P. Characterization of Bixin by UV-Visible Spectroscopy and HPLC, and Its Application as Latent Fingermark Developer. *Analytica*, v. 5, n. 1, p. 107–118, 2024. DOI: 10.3390/analytica5010007.

7.1.2 Trabalhos aceitos para publicação

1. Silveira, C. A.; Pereira, S. A.; Leon, V. B. C.; Camacho, J. T.; Leitzke, A. F.; Freitag, R. A.; Pereira, C. M. P.; Rosa, B. N. Reutilização Do Ácido Acetilsalicílico Preparado

Nas Aulas De Química Orgânica Experimental Como Revelador De Impressões Digitais: Uma Aplicação No Ensino De Química, **Química Nova**, 2024.

7.1.3 Trabalhos submetidos

1. Trindade, T. M. L. S.; Jansen-Alves, C.; Perleberg, C.; Bueno, D. T.; **Leitzke, A. F.**; Zavareze, E. R.; Pereira, C. M. P. Black soldier fly larvae oil encapsulated in zein ultrafine fibers by electrospinning: characterization and antioxidant activity. **Food Chemistry**, 2024.

7.1.4 Patentes

1. **Leitzke, A. F.**; Pereira, C. M. P.; Jansen-Alves, C.; Bueno, D. T.; Bonemann, D. H.; Zavareze, E. R.; Sejanes, G. Q.; Stefanello, F. M. Fibras ultrafinas produzidas com fucoidana e zeína por *electrospinning*, 2024, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020240192923, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 19/09/2024.

2. Bioprocesso de biorremediação e biorrefinaria de efluentes utilizando microalgas e biorreatores iluminados de baixo custo com aproveitamento integral da biomassa, seus usos e aplicações. Processo SEI: 23110.024026/2024-87.

Referências

ADARSHAN, Sivakumar *et al.* Understanding macroalgae: A comprehensive exploration of nutraceutical, pharmaceutical, and omics dimensions. **Plants**, v. 13, n. 1, p. 113, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants13010113>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/1/113>. Acesso em: 17 ago 2024.

AFONSO, Nuno C. *et al.* Brown macroalgae as valuable food ingredients. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, p. 365, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8090365>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/8/9/365>. Acesso em: 17 ago 2024.

AHMADIAN, Amirhossein *et al.* Overview of nano-fiber mats fabrication via electrospinning and morphology analysis. **Textiles**, v. 1, n. 2, p. 206-226, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/textiles1020010>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-7248/1/2/10>. Acesso em: 19 ago 2024.

ALE, Marcel Tutor *et al.* Fucoidan from *Sargassum* sp. and *Fucus vesiculosus* reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cells in vitro and activates natural killer cells in mice *in vivo*. **International journal of biological macromolecules**, v. 49, n. 3, p. 331-336, 2011. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.05.009>. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813011001929?casa_token=KSDwWodKU40AAAAA:1MrRBfl2Pc82wn-luuP5D8yJOTWDfEdb34I-dtOwoAKdWpq-ajAVeZwo5zkXuBMuhf8SvWOYfw. Acesso em: 17 ago 2024.

ALI, Shamshad *et al.* Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and characterization. **Macromolecular Research**, v. 22, p. 971-977, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13233-014-2136-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13233-014-2136-4>. Acesso em: 20 ago 2024.

ALMETWALLY, Alsaïd Ahmed *et al.* Technology of nano-fibers: Production techniques and properties-Critical review. **J. Text. Assoc.**, v. 78, n. 1, p. 5-14, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/322774945>. Acesso em: 19 ago 2024.

AMJADI, Sajed *et al.* Reinforced ZnONPs/rosemary essential oil-incorporated zein electrospun nanofibers by κ-carrageenan. **Carbohydrate polymers**, v. 232, p. 115800, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115800>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861719314687?casa_token=h2XeRM8DDHwAAAAA:VuSYadIxzc45CgdLwmm4YBltnUvpbR9vy0lj3Xts_jeY6JJwfLRHfmr70pLxovPPc4VaZvScQ. Acesso em: 19 ago 2024.

ANTUNES, Bruna da Fonseca *et al.* Evaluation of physicochemical, bioactive composition and profile of fatty acids in leaves of different olive cultivars. **Revista Ceres**, v. 68, p. 511-520, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X202168060002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcceres/a/smtRYVbBGQyqyq9bcSNHP4q/>. Acesso em: 17 ago 2024.

AOAC International. Official Methods of Analysis of AOAC International, Official Method 965.26. 20 ed. Rockville: 2016.

APOSTOLOVA, Elisaveta *et al.* Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of fucoidan: A review. **Polymers**, v. 12, n. 10, p. 2338, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym12102338>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/10/2338>. Acesso em: 19 ago 2024.

ARIAS, Ana; FEIJOO, Gumersindo; MOREIRA, Maria Teresa. Macroalgae biorefineries as a sustainable resource in the extraction of value-added compounds. **Algal Research**, v. 69, p. 102954, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102954>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926422003253>. Acesso em: 21 ago 2024.

AVOSSA, Joshua *et al.* Electrospinning based on benign solvents: Current definitions, implications and strategies. **Green Chemistry**, v. 24, n. 6, p. 2347-2375, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1GC04252A>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/gc/d1gc04252a>. Acesso em: 23 ago 2024.

BARBOSA, Jaderson de AB *et al.* Eudragit E100/poly (ethylene oxide) electrospun fibers for DNA removal from aqueous solution. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 19, p. 47479, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.47479>. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.47479?casa_token=_F4fQFS0md8AAAAA%3ADAQ6e-AJI-Cid8bRBM7EFLpHUtUgQ5ATe8S91WeFXJa59N3XR5dnNCEaHQ5YL6xhv4VYpdiNq6odw. Acesso em: 19 ago 2024.

BERMÚDEZ, Miguel A. *et al.* Roles of palmitoleic acid and its positional isomers, hypogecic and sapienic acids, in inflammation, metabolic diseases and cancer. **Cells**, v. 11, n. 14, p. 2146, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11142146>. Disponível em: 2073-4409/11/14/2146. Acesso em: 25 ago 2024.

BERNEIRA, Lucas M. *et al.* Bioactivity and composition of lipophilic metabolites extracted from Antarctic macroalgae. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 1275-1285, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00475-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-021-00475-6>. Acesso em: 24 ago 2024.

BHARATHI, S. K. V. *et al.* Zein-based anti-browning cling wraps for fresh-cut apple slices. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55, n. 3, p. 1238-1245, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.14401>. Disponível em: https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijfs.14401?casa_token=SEKK751yC8cAAAAA:d6hVu0CyzVpsk7t-NSAV9Y5Ay0IY8-A7zINePUc3NiMdlof7bahUWqhuyyT571_13-DUBQ0ponxz4Q. Acesso em: 19 ago 2024.

BLIGH, E. Graham; DYER, W. Justin. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959. DOI: <https://doi.org/10.1139/o59-099>. Disponível em: <https://cdnsciencepub.com/doi/abs/10.1139/o59-099>. Acesso em: 17 ago 2024.

BONAKDAR, Mahboubeh A.; RODRIGUE, Denis. Electrospinning: Processes, structures, and materials. **Macromol**, v. 4, n. 1, p. 58-103, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/macromol4010004>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-6209/4/1/4>. Acesso em: 23 ago 2024.

BRINGLOE, Trevor T. *et al.* Phylogeny and evolution of the brown algae. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 39, n. 4, p. 281-321, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1787679>. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07352689.2020.1787679?casa_token=tkwL86SyDAAAAA%3AKRON4ye7PnBCdDmzUfoo79XzSuyl04MubhTngknYmCv5IP0dqVnZmC2ngQ4QUI6iqYI_ok6DFklocA. Acesso em: 17 ago 2024.

CABALLERO, Eduardo; FLORES, Agustín; OLIVARES, Araceli. Sustainable exploitation of macroalgae species from Chilean coast: Characterization and food applications. **Algal Research**, v. 57, p. 102349, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102349>. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926421001685?casa_token=mR_RxUkEWRgAAAAA:lvDoBkkP2kgfGSTB07gLXfsbT4zlbVjyC70tqv0cJ2lKeJkxBj_yPnuJPKA4DpF9morRZxxFQA. Acesso em: 21 ago 2024.

CARTA, Gianfranca *et al.* Palmitic acid: physiological role, metabolism and nutritional implications. **Frontiers in physiology**, v. 8, p. 902, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00902>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2017.00902/full>. Acesso em: 25 ago 2024.

CATARINO, Marcelo D.; SILVA, Artur MS; CARDOSO, Susana M. Phycochemical constituents and biological activities of *Fucus* spp. **Marine drugs**, v. 16, n. 8, p. 249, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/MD16080249>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/16/8/249>. Acesso em: 17 ago 2024.

CHEN, Chun-Yen *et al.* Effect of molecular mass and sulfate content of fucoidan from *Sargassum siliquosum* on antioxidant, anti-lipogenesis, and anti-inflammatory activity. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 132, n. 4, p. 359-364, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.06.005>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389172321001511?casa_token=seMLnnrJ4oYAAAAA:6bpYaXqBOc_USqDT0JVCza4ViqlGy7QkCgvOH9t85JyMk6d8YgR7MjMChesM1zDkPnc-Rj4CA. Acesso em: 19 ago 2024.

CHEN, Han *et al.* Recent developments of electrospun zein nanofibres: Strategies, fabrication and therapeutic applications. **Materials Today Advances**, v. 16, p. 100307, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100307>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590049822001035>. Acesso em: 17 ago 2024.

CHEN, Yiwen *et al.* Preparation of fucoidan-based electrospun nanofibers and their interaction with endothelial cells. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 739209, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.739209>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/bioengineering-and-biotechnology/articles/10.3389/fbioe.2021.739209/full>. Acesso em 19 ago 2024.

CHI, Yongzhou *et al.* Utilization of *Durvillaea antarctica* (Chamisso) Hariot extract as a biostimulant to enhance the growth of cucumber (*Cucumis sativus L.*) seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10506-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-021-10506-z>. Acesso em: 25 ago 2024.

CHUGH, Mohita *et al.* Algal Bioremediation of heavy metals: An insight into removal mechanisms, recovery of by-products, challenges, and future opportunities. **Energy Nexus**, v. 7, p. 100129, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100129>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772427122000845>. Acesso em: 25 ago 2024.

CID, Héctor *et al.* Characterization of copper (II) biosorption by brown algae *Durvillaea antarctica* dead biomass. **Adsorption**, v. 21, p. 645-658, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10450-015-9715-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10450-015-9715-3>. Acesso em: 25 ago 2024.

CITKOWSKA, Aleksandra; SZEKALSKA, Marta; WINNICKA, Katarzyna. Possibilities of fucoidan utilization in the development of pharmaceutical dosage forms. **Marine drugs**, v. 17, n. 8, p. 458, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/md17080458>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/8/458>. Acesso em: 17 ago 2024.

CLEETON, Conor *et al.* Electrospun nanofibers for drug delivery and biosensing. **ACS biomaterials science & engineering**, v. 5, n. 9, p. 4183-4205, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00853>. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsbiomaterials.9b00853?casa_token=ZwxvT45D0wAAAAAA%3APGcfQdIG0wXOPO1kh7gETwibLvhphL_imfDN-5bcUq9fPstzr9gae70OTD38dFtYs-SZBAxwOl8pJL4. Acesso em: 19 ago 2024.

CREIGHTON, R. L.; PHAN, J.; WOODROW, K. A. In situ 3D-patterning of electrospun fibers using two-layer composite materials. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 7949, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64846-z>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-64846-z>. Acesso em: 19 ago 2024.

CUNHA, Ludmylla; GRENA, Ana. Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. **Marine drugs**, v. 14, n. 3, p. 42, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/MD14030042>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/14/3/42>. Acesso em: 17 ago 2024.

DAS, Poushali *et al.* Graphene based emergent nanolights: A short review on the synthesis, properties and application. **Research on Chemical Intermediates**, v. 45, p. 3823-3853, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11164-019-03823-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11164-019-03823-2>. Acesso em: 20 ago 2024.

DE CARVALHO, Carla; CARAMUJO, Maria José. The various roles of fatty acids. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2583, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23102583>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/10/2583>. Acesso em: 24 ago 2024.

DENISENKO, Yulia K. *et al.* The role of arachidonic acid metabolites (endocannabinoids and eicosanoids) in the immune processes: a review. **International Journal of Chemical and Biomedical Science**, v. 1, n. 3, p. 70-78, 2015. Disponível em: [https://www.semanticscholar.org/paper/The-Role-of-Arachidonic-Acid-Metabolites-\(and\)-in-Denisenko-Lobanova/8cf70f7d5026b37f391f9b28b2196262bd8f98b1](https://www.semanticscholar.org/paper/The-Role-of-Arachidonic-Acid-Metabolites-(and)-in-Denisenko-Lobanova/8cf70f7d5026b37f391f9b28b2196262bd8f98b1). Acesso em: 25 ago 2024.

DO-AMARAL, C. C. F. *et al.* Antitumoral effects of fucoidan on bladder cancer. **Algal Research**, v. 47, p. 101884, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101884>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926419309488?casa_token=

8YDYaP6gf3QAAAAA:EtS45bTbnvh3t-tJIHRYHEpFvR3awXcl9-poF67VlkPvi39Z45vOgR5tR8lTdEBnHRKg47ey1OY. Acesso em: 25 set 2024.

DOMINGUEZ, Herminia; LORET, Erwann P. *Ulva lactuca*, a source of troubles and potential riches. **Marine drugs**, v. 17, n. 6, p. 357, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/md17060357>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/6/357>. Acesso em: 17 ago 2024.

DOS SANTOS, Marco Aurélio Ziemann *et al.* Pigment concentration, photosynthetic performance, and fatty acid profile of sub-Antarctic brown macroalgae in different phases of development from the Magellan Region, Chile. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 2629-2642, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01777-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-019-01777-x>. Acesso em: 24 ago 2024.

DOS SANTOS, Marco Aurélio Ziemann *et al.* Rhodophyta, Ochrophyta and Chlorophyta macroalgae from different sub-Antarctic regions (Chile) and their potential for polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Botany**, v. 44, p. 429-438, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00712-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40415-021-00712-0>. Acesso em: 24 ago 2024.

DOS SANTOS, Marco *et al.* Antarctic red macroalgae: a source of polyunsaturated fatty acids. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 759-767, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-016-1034-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-016-1034-x>. Acesso em: 24 ago 2024.

DU, Bin *et al.* A critical review on extraction, characteristics, physicochemical activities, potential health benefits, and industrial applications of fucoidan. **EFood**, v. 3, n. 4, p. e19, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/efd2.19>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/efd2.19>. Acesso em: 17 ago 2024.

EL-BELTAGI, Hossam S. *et al.* Phytochemical and potential properties of seaweeds and their recent applications: A review. **Marine drugs**, v. 20, n. 6, p. 342, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/md20060342>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/20/6/342>. Acesso em: 20 ago 2024.

FATHI-ACHACHELOUEI, Milad *et al.* Use of nanoparticles in tissue engineering and regenerative medicine. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 7, p. 113, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00113>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/bioengineering-and-biotechnology/articles/10.3389/fbioe.2019.00113/full>. Acesso em: 19 ago 2024.

FİGEN, Aysel Kantürk. History, basics, and parameters of electrospinning technique. **Electrospun Materials and Their Allied Applications**, p. 53-69, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119655039.ch2>. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119655039.ch2>. Disponível em: Acesso em: 21 ago 2024.

FILHO, Alaor Valerio *et al.* Extraction of fatty acids and cellulose from the biomass of algae *Durvillaea antarctica* and *Ulva lactuca*: An alternative for biorefineries. **Algal Research**, v. 71, p. 103084, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103084>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926423001170?casa_token=QMu0g2AlISgAAAAA:2kDIMuyaWYe2j1ZyA73-HiTIS1NZ6txTtg8dAoFgeF6fTBXMMjDGM97QbskWj-I-5EUT0Gh5Q. Acesso em: 23 ago 2024.

FOLEY, Sarah A. *et al.* An unfractionated fucoidan from *Ascophyllum nodosum*: extraction, characterization, and apoptotic effects in vitro. **Journal of natural products**, v. 74, n. 9, p. 1851-1861, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/np200124m>. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/np200124m?casa_token=RwkeMlylt-cAAAAA%3A9B-fMylk6olpVAcRz04p1wJVVyWQ0y948SY6wFvNzBU0whLiLhQWwFr57OuUYaN0bueD8zZuzV9EcUk. Acesso em: 19 ago 2024.

GARCÍA-VAQUERO, Marco *et al.* Polysaccharides from macroalgae: Recent advances, innovative technologies and challenges in extraction and purification. **Food research international**, v. 99, p. 1011-1020, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.016>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996916305567?casa_token=MiqyBu-e_PUAAAAA:IIJtolbcg912D3J031MiiiaSyoPrgtz5grAzHvfCLsSWaiuo9BnQoWmmOYx4XNvxpBoRBMYOHtQ. Acesso em: 17 ago 2024.

GOMES-DIAS, Joana S.; TEIXEIRA, José A.; ROCHA, Cristina MR. Recent advances in the valorization of algae polysaccharides for food and nutraceutical applications: A review on the role of green processing technologies. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, n. 9, p. 1948-1976, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02812-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-022-02812-5>. Acesso em: 17 ago 2024.

GOUSHKI, Mehdi Amiri; SABAH, Hossein; KABIRI, Mahboubeh. In Vitro Evaluation of the Wound Healing Properties and Safety Assessment of Fucoidan Extracted from *Sargassum angustifolium*. **CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.55003/cast.2023.05.23.014>. Disponível em: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/cast/article/view/256617>. Acesso em: 20 ago 2024.

GUARINO, Vincenzo; AMBROSIO, Luigi. **Electrofluidodynamic technologies (EFDTs) for biomaterials and medical devices: principles and advances**. Woodhead Publishing, 2018.

GUARÍN-ROMERO, Jhonatan R. *et al.* Simple and competitive adsorption study of nickel (II) and chromium (III) on the surface of the brown algae *Durvillaea antarctica* biomass. **ACS omega**, v. 4, n. 19, p. 18147-18158, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02061>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.9b02061>. Acesso em: 25 ago 2024.

GUERRERO-WYSS, Marion *et al.* *Durvillaea antarctica*: a seaweed for enhancing immune and cardiometabolic health and gut microbiota composition modulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, p. 10779, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241310779>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/13/10779>. Acesso em: 20 ago 2024.

HAIDER, Sajjad *et al.* Highly aligned narrow diameter chitosan electrospun nanofibers. **Journal of Polymer Research**, v. 20, p. 1-11, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10965-013-0105-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10965-013-0105-9>. Acesso em: 25 ago 2024.

HAMMAD, Shatha; PU, Shuaihua; JONES, Peter J. Current evidence supporting the link between dietary fatty acids and cardiovascular disease. **Lipids**, v. 51, p. 507-517, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11745-015-4113-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11745-015-4113-x>. Acesso em: 24 ago 2024.

HAO, Yuanping *et al.* Bio-multifunctional alginate/chitosan/fucoidan sponges with enhanced angiogenesis and hair follicle regeneration for promoting full-thickness wound healing. **Materials & Design**, v. 193, p. 108863, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.108863>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026412752030397X>. Acesso em: 24 set 2024.

HAYCOCK, Philip C. *et al.* The association between genetically elevated polyunsaturated fatty acids and risk of cancer. **EBioMedicine**, v. 91, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104510>. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(23\)00075-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(23)00075-0/fulltext). Acesso em: 24 ago 2024.

HE, Min *et al.* Fabrication of metronidazole loaded poly (ϵ -caprolactone)/zein core/shell nanofiber membranes via coaxial electrospinning for guided tissue regeneration. **Journal of colloid and interface science**, v. 490, p. 270-278, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.11.062>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979716309390?casa_token=oDBHINZdzHwAAAAA:9tIMXsrIEfvWO1MiDiiUbOpJlHneaRXVjpdIFm9YteMVYcPX1ooCfUd4-EUUq4RYB1XaKyqHPQ. Acesso em: 19 ago 2024.

HEALY, Laura E. *et al.* Biomolecules from macroalgae—nutritional profile and bioactives for novel food product development. **Biomolecules**, v. 13, n. 2, p. 386, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom13020386>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/13/2/386>. Acesso em: 17 ago 2024.

HUANG, Wenquan *et al.* Recent advances in zein-based nanocarriers for precise cancer therapy. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 7, p. 1820, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/esfaf863>. Disponível em: <https://www.esppublisher.com/journals/articledetails/863>. Acesso em: 25 set 2024.

ISLAM, Md Shariful *et al.* A review on fabrication of nanofibers via electrospinning and their applications. **SN Applied Sciences**, v. 1, p. 1-16, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1288-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42452-019-1288-4>. Acesso em: 17 ago 2024.

JAVID, Saleem *et al.* Semisynthesis of myristic acid derivatives and their biological activities: A critical insight. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 10, n. 6, p. 455-472, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/22311866.2020.1865836>. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/22311866.2020.1865836?casa_token=Ls9Wdu0BTHgAAAAA:m-sG2IxpdDKaLY9ShnUXTDpacOHqfN5YfygJqZICALT0rqaep-ZyGjKAKTL21IOcEHjyKrB5ZS3Yzg. Acesso em: 25 ago 2024.

JIANG, Wenlai *et al.* Electrospun zein nanofibers: from food to food. **ES Food & Agroforestry**, v. 12, p. 863, 2023. DOI: <https://doi.org/10.30919/esfaf863>. Disponível em: <https://www.espublisher.com/journals/articledetails/863>. Acesso em: 17 ago 2024.

JIN, Weihua *et al.* A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans. **Carbohydrate polymers**, v. 91, n. 1, p. 1-6, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.067>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861712007400?casa_token=fauLUHxcu6IAAAA:UndmDMBpuN3BbadVqKLZTluB1uVXNDJpA-hF4qO7cczQPXGf_0YkN_1pBYdVyEGC1ZkGgqoxvw. Acesso em: 19 ago 2024.

KADAM, Shekhar U.; TIWARI, Brijesh K.; O'DONNELL, Colm P. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, n. 1, p. 24-31, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12692>. Disponível em: https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijfs.12692?casa_token=bEOB3vJE_UAAAAA:aIEBz1vt6iOml0xuGouMvbHcQBlzu3O8_gjaAKO85ahBDEL0HFNoUT1cv851XoG565t7saFXWhCcw. Acesso em: 20 ago 2024.

KARADUMAN, Fatma Rabia; ÇULHA, Saniye Türk; HORZUM, Nesrin. Algal nanofibers: Current status and recent developments. **Materials Today Communications**, v. 33, p. 104248, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104248>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352492822010960?casa_token=BqquDUVzKtAAAAAA:aH70a-igjNGzOhwrwxXAeKQyNZtgIW0-CM4SuxshuHWPql6pQQaVrNMGDF3_9VbxhyWd1kBvg. Acesso em: 26 ago 2024.

KASAAI, Mohammad Reza. Zein and zein-based nano-materials for food and nutrition applications: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 184-197, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.015>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224417306453?casa_token=A4X_5p49UlgAAAAA:BEyPrBK3DI59nVAUXDWB7gubmNdgD3G3_-Nzt0a_ARTMtzYSFHloL1Uye1TUFzS7hZIJFog8A. Acesso em: 19 ago 2024.

KAYACI, Fatma; UYAR, Tamer. Electrospun zein nanofibers incorporating cyclodextrins. **Carbohydrate polymers**, v. 90, n. 1, p. 558-568, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.078>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861712005371?via%3Di_hub. Acesso em: 05 set 2024.

KEIROUZ, Antonios *et al.* The history of electrospinning: Past, present, and future developments. **Advanced Materials Technologies**, v. 8, n. 11, p. 2201723, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/admt.202201723>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/admt.202201723>. Acesso em: 17 ago 2024.

KENRY; LIM, Chwee T. Nanofiber technology: current status and emerging developments. **Progress in polymer science**, v. 70, p. 1-17, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.03.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670017300692>. Acesso em: 21 ago 2024.

KHATULISTIANI, T. S. *et al.* Bioactivities of red seaweed extracts from Banten, Indonesia. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/404/1/012065>. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/404/1/012065/meta>. Acesso em: 21 ago 2024.

KUMAR, Amit; SENGAR, Rakesh Singh; SAHI, Shivendra Vikram. Acclimation and adaptation of plants to different environmental abiotic stresses. **Climate Change Effect on Crop Productivity**, p. 329-353, 2014. Disponível em: [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aZPaBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA329&dq=factors+such+as+exposure+to+solar+radiation+and+hyperosmotic+stress+can+influence+the+variation+in+the+concentration+of+these+fatty+acids+\(Kumar+et+al.,+2014\).&ots=XXwavmRKqf&sig=ctuL_kU5v2sJ1FIRdj8ZtCf-atk#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aZPaBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA329&dq=factors+such+as+exposure+to+solar+radiation+and+hyperosmotic+stress+can+influence+the+variation+in+the+concentration+of+these+fatty+acids+(Kumar+et+al.,+2014).&ots=XXwavmRKqf&sig=ctuL_kU5v2sJ1FIRdj8ZtCf-atk#v=onepage&q&f=false). Acesso em: 23 ago 2024.

KUMAR, Senthil Muthu *et al.* A comprehensive review of electrospun nanofibers: Food and packaging perspective. **Composites Part B: Engineering**, v. 175, p. 107074, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107074>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359836819324953>. Acesso em: 19 ago 2024.

KUMAR, K. Suresh *et al.* Influence of seasonal variation on chemical composition and nutritional profiles of macro-and microalgae. **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing: Food and Health Perspectives**, p. 14-71, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119542650.ch2>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119542650.ch2>. Acesso em: 24 set 2024.

KUTNER, Włodzimierz; SHARMA, Piyush Sindhu (Ed.). **Molecularly imprinted polymers for analytical chemistry applications**. Royal Society of Chemistry, 2018. Disponível em: [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aZPaBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA329&dq=factors+such+as+exposure+to+solar+radiation+and+hyperosmotic+stress+can+influence+the+variation+in+the+concentration+of+these+fatty+acids+\(Kumar+et+al.,+2014\).&ots=XXwavmRKqf&sig=ctuL_kU5v2sJ1FIRdj8ZtCf-atk#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aZPaBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA329&dq=factors+such+as+exposure+to+solar+radiation+and+hyperosmotic+stress+can+influence+the+variation+in+the+concentration+of+these+fatty+acids+(Kumar+et+al.,+2014).&ots=XXwavmRKqf&sig=ctuL_kU5v2sJ1FIRdj8ZtCf-atk#v=onepage&q&f=false)

BR&lr=&id=ISJYDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Kutner,+W.%3B+Sharma,+P.+S.%3B+Molecularly+Imprinted+Polymers+for+Analytical+Chemistry+Applications.+In+Polymer+Chemistry+Series,+Kutner,+W.,+Sharma,+P.+S.,+Eds.%3B+Royal+Society+of+Chemistry:+Cambridge,+UK,+2018&ots=XQjoe9E47Z&sig=4O iPqsWcJrZsFXkB TJb0fH5HwaU. Acesso em: 20 ago 2024.

LI, Mengna *et al.* Nitric oxide-releasing tryptophan-based poly (ester urea) s electrospun composite nanofiber mats with antibacterial and antibiofilm activities for infected wound healing. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 14, n. 14, p. 15911-15926, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.1c24131>. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsami.1c24131?casa_token=4pWVUj-L5zoAAAAA%3Au9IQA1cGCbcBSZIRbb5eNQyRyKz9ASjfuUHpcBqCgefTQflJ3dtsqMEC8Bm3iW-D65U-RALzG5qiVbl. Acesso em: 19 ago 2024.

LI, Qin *et al.* Genipin-crosslinked electrospun chitosan nanofibers: Determination of crosslinking conditions and evaluation of cytocompatibility. **Carbohydrate polymers**, v. 130, p. 166-174, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.039>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715004452?casa_token=MoATL3wqTicAAAAA:7MobmZjHN3vJq9DwzHlooFY_klonL2BBMIgRNy1OCkTAvtGG2yfwSuFfUi9y4IEvNEc32A-lbA. Acesso em: 25 ago 2024.

LI, Ya *et al.* Developments of advanced electrospinning techniques: A critical review. **Advanced Materials Technologies**, v. 6, n. 11, p. 2100410, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/admt.202100410>. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/admt.202100410?casa_token=V4bF6cMHwVwAAAAA:Cl6ZIbX8XMit1rMuZX1sMEdCLwhRIzMB6FyEv6-hx-JUb-AwOOObSv5nG92doTmqwT_hNwzydrC_f4g. Acesso em: 21 ago 2024.

LI, Yanping *et al.* Brown algae carbohydrates: Structures, pharmaceutical properties, and research challenges. **Marine drugs**, v. 19, n. 11, p. 620, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/md19110620>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/19/11/620>. Acesso em: 20 ago 2024.

LIANG, Xiao *et al.* Co-encapsulation of tannic acid and resveratrol in zein/pectin nanoparticles: stability, antioxidant activity, and bioaccessibility. **Foods**, v. 11, n. 21, p. 3478, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11213478>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/21/3478>. Acesso em: 25 set 2024.

LIU, Guijin *et al.* Zein-based nanoparticles: Preparation, characterization, and pharmaceutical application. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1120251, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1120251>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2023.1120251/full>. Acesso em: 19 ago 2024.

LORENZO, José M. *et al.* Proximate composition and nutritional value of three macroalgae: *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*. **Marine drugs**, v. 15, n. 11, p. 360, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/md15110360>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/15/11/360>. Acesso em: 20 ago 2024.

LU, Hsien-Tsung *et al.* Modification of chitosan nanofibers with CuS and fucoidan for antibacterial and bone tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 281, p. 119035, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119035>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861721014223?casa_token=NhGIUfHgB8AAAAAA:1P83qmJcMj5xhDdHaMFdSd28iSPTXcmwb4HX0PcZ-E2WAcU01uZBvPOXzIHjKCRyXJAzptb6xVM. Acesso em 19 ago 2024.

LUDUVICO, Karina Pereira *et al.* Electrospraying and electrospinning of tannic acid-loaded zein: Characterization and antioxidant effects in astrocyte culture exposed to *E. coli* lipopolysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 267, p. 131433, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131433>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813024022384?casa_token=nPRPvLUj3iMAAAAAA:BpVIQbyNLWyg2FFBGGGH44D2J_IHnZE6LgX3MvBP-m4Ypxf_YkANIPyEhV5zB-TCC4KGEPB6uQ. Acesso em: 21 ago 2024.

LUO, Xi *et al.* Advances and prospects of prolamine corn protein zein as promising multifunctional drug delivery system for cancer treatment. **International journal of nanomedicine**, p. 2589-2621, 2023. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S402891>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/IJN.S402891>. Acesso em: 20 ago 2024.

MALDONADE, Iriani R.; DE CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, Nathalie A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Comunidade Técnico EMBRAPA, n. 85, ISSN 1414.9850, 2013. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/956032/1/cot85.pdf>. Acesso em: 17 ago 2024.

MANSILLA, Andrés; ÁVILA, Marcela. Using *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh from southern Chile as a source of applied biological compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 262-267, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000072>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/vjXwx6SBLccSbVY4yBB3q5t/?lang=en>. Acesso em 26 ago 2024.

MARTIN, Alma *et al.* Zein-polycaprolactone core–shell nanofibers for wound healing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 621, p. 121809, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121809>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517322003647>. Acesso em: 20 ago 2024.

MATELUNA, C. *et al.* Effect of processing on texture and microstructure of the seaweed *Durvillaea antarctica*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 4211-4219, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02259-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-020-02259-1>. Acesso em: 25 ago 2024.

MENG, Weihao; MU, Taihua; MARCO, Garcia-Vaquero. Seaweeds and microalgal biomass: The future of food and nutraceuticals. In: **Future foods**. Academic Press, 2022. p. 183-201. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91001-9.00014-1>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323910019000141>.

Acesso em: 25 ago 2024.

MENSAH, Emmanuel Ofosu *et al.* Marine fucoidans: Structural, extraction, biological activities and their applications in the food industry. **Food Hydrocolloids**, v. 142, p. 108784, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108784>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X23003302>. Acesso em: 20 ago 2024.

MERCANTE, Luiza A. *et al.* Electrospinning-based (bio) sensors for food and agricultural applications: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 91, p. 91-103, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.04.004>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993617300493?casa_token=WoFLw6EXBYkAAAAA:kjQXTGZly0qqslnZGSt7Ar8RsW1iOCppEjlPr4LNSptC6pOGfrCEYkWpbJ5JaI7cNppcuRP7sg. Acesso em: 19 ago 2024.

MERCANTE, Luiza Amim.; CORRÊA, Daniel Souza. **Eletrofiação e nanofibras: fundamentos e aplicações**. Ponta Grossa – PR: Atena, 2023.

MIRI, Mohammad Amin *et al.* Encapsulation of ascorbyl palmitate in zein by electrospinning technique. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, n. 4, p. 1089-1098, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01954-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10924-020-01954-x>. Acesso em: 24 ago 2024.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022175983903034>. Acesso em: 20 ago 2024.

NADAF, Arif *et al.* Recent update on electrospinning and electrospun nanofibers: current trends and their applications. **RSC advances**, v. 12, n. 37, p. 23808-23828, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/D2RA02864F>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/ra/d2ra02864f>. Acesso em: 20 ago 2024.

NANDA, Alka *et al.* Revolution of nanotechnology in food packaging: Harnessing electrospun zein nanofibers for improved preservation-A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 129416, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129416>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813024002198?casa_token=C2IH2r4tgA0AAAAA:tXWSXuq1KJCRilltWpzGSLrwles0NG4pTEIAh7ojidw0r4N97Na7VsilpvntUv0hE9RCRKbtAB8. Acesso em: 19 ago 2024.

NAUGHTON, Shaan S. et al. Linoleic acid and the pathogenesis of obesity. **Prostaglandins & other lipid mediators**, v. 125, p. 90-99, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2016.06.003>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1098882316300363?casa_token=Fqb4pTwRVtYAAAAA:Q5niaEll1LDqLeaySGyRHC3RQWJeNcyza5gEGIOpStzFMGFPsVNjD7MEn5a1oZZQOcOPx_uhlw. Acesso em: 25 ago 2024.

ORTIZ, Jaime et al. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 98-104, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.027>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605006011?casa_token=mE0JVoscOe4AAAAA:LGAEgK529DqliWm15z2kQdF6jq6ZiB5vZRINOYdtJ7t38y1Zle-sTR74_t0nwXZmn1MPGwm4vg. Acesso em: 21 ago 2024.

OTERO, Paz et al. Seaweed polysaccharides: Emerging extraction technologies, chemical modifications and bioactive properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 13, p. 1901-1929, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1969534>. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2021.1969534?casa_token=SIDfxLgnA0AAAAAA:uhcRPVLgl0DRyMkx3c3FfMdlyth9ImwDZpdkoK8-8l7OKaV4pHVhbNc86BHLW5fAv61bd3egNarzcA. Acesso em: 17 ago 2024.

PARK, Jun-Hyeong et al. Promoting wound healing using low molecular weight fucoidan in a full-thickness dermal excision rat model. **Marine Drugs**, v. 15, n. 4, p. 112, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/MD15040112>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/15/4/112>. Acesso em: 24 set 2024.

PAUWELS, Bea et al. Comparison of the sulforhodamine B assay and the clonogenic assay for in vitro chemoradiation studies. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 51, p. 221-226, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00280-002-0557-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00280-002-0557-9>. Acesso em: 20 ago 2024.

PEÑALVER, Rocío et al. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. **Marine Drugs**, v. 18, n. 6, p. 301, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/MD18060301>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/6/301>. Acesso em: 19 ago 2024.

PÉREZ-GUZMÁN, Carlos Joaquín; CASTRO-MUÑOZ, Roberto. A review of zein as a potential biopolymer for tissue engineering and nanotechnological applications. **Processes**, v. 8, n. 11, p. 1376, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr8111376>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/11/1376>. Acesso em: 19 ago 2024.

POVEDA-CASTILLO, Gabriela del Carmen et al. Bioactivity of fucoidan as an antimicrobial agent in a new functional beverage. **Beverages**, v. 4, n. 3, p. 64, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages4030064>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-5710/4/3/64>. Acesso em: 19 ago 2024.

PRADHAN, Biswajita *et al.* A state-of-the-art review on fucoidan as an antiviral agent to combat viral infections. **Carbohydrate Polymers**, v. 291, p. 119551, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119551>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861722004568?casa_token=xJAHRA9qNzgAAAAA:4j6JY0g1-elh6L-XL3uXmE0NV8ISJfu0BBibrCjvY2rBN1T3CM4RSwXH9W-z8CD96rhHGufg. Acesso em: 19 ago 2024.

PRIETTO, Luciana *et al.* Ultrafine fibers of zein and anthocyanins as natural pH indicator. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 7, p. 2735-2741, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8769>. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jsfa.8769>. Acesso em: 25 ago 2024.

PTAK, S. H.; FRETTE, X. C. **Algae for Food: Cultivation, Processing and Nutritional Benefits**. Capítulo 15. Algae Polysaccharides as Nutraceuticals: Isolation, Characterization and Bioactivities of Fucoidans, CRC Press, p. 211-237, 2021.

PUIGMAL, Arnaud Cuesta *et al.* Fucoidan-loaded electrospun Polyvinyl-alcohol/Chitosan nanofibers with enhanced antibacterial activity for skin tissue engineering. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 148, p. 106163, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.106163>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616123005167?casa_token=QWpOM0DqvRkAAAAA:N7sbT1pbsNAyyFsJRmP_uFeOVkWryAwXh-LemUbeMqxz8gdSTGLn7uFrBfvWADxBE9AnX1baRso. Acesso em 19 ago 2024.

QUIÑONES, John *et al.* Dietary inclusion of *Durvillaea antarctica* meal and rapeseed (*Brassica napus*) oil on growth, feed utilization and fillet quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 530, p. 735882, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735882>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848620327897?casa_token=zTBM5qiXCSoAAAAA:rqsHh2WYD8a0QLFQuSTk3iBVg6Qesi1HzuMbF-mCFa7Jmpua68qltidUbW-zlmbmnD8Sy-niLJc. Acesso em: 20 ago 2024.

RAMAKRISHNA, S. *et al.* **An introduction to electrospinning and nanofibers**. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd - USA, 2015. ISBN: 981-256-415-2. Disponível em: [https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=1MBgDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Ramakrishna,+S.,+Fujihara,+K.,+Teo,+W.-E.,+Lim,+T.-C.+and+Ma,+Z.+An+introduction+to+electrospinning+and+nanofibers.+World+Scientific+Publishing+Co.+Pte.+Ltd,+USA,+%\(2015\).+&ots=U3dRc60AA7&sig=_28g_6iJkBelKxhzwzAT_-DUmic#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=1MBgDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Ramakrishna,+S.,+Fujihara,+K.,+Teo,+W.-E.,+Lim,+T.-C.+and+Ma,+Z.+An+introduction+to+electrospinning+and+nanofibers.+World+Scientific+Publishing+Co.+Pte.+Ltd,+USA,+%(2015).+&ots=U3dRc60AA7&sig=_28g_6iJkBelKxhzwzAT_-DUmic#v=onepage&q&f=false). Acesso em: 26 ago 2024.

RASHID, Taslim Ur; GORGA, Russell E.; KRAUSE, Wendy E. Mechanical properties of electrospun fibers—a critical review. **Advanced Engineering Materials**, v. 23, n. 9, p. 2100153, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/adem.202100153>. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adem.202100153?casa_token=l3m2Qi bQSWQAAAAA:7gVO8pnn7MMOP2bA90ttqTmAnMci4zLH2Cz8H1xUWhvdii5Cz6AI aby9CDO2QIzYn61H7N5xY4Gqw. Acesso em: 25 ago 2024.

- REZAZADEH, Aida *et al.* Capsaicin-incorporated zein electrospun nanofibers: Characterization and release behavior. *Food Bioscience*, v. 49, p. 101843, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101843>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429222003029?casa_token=EkYEfwo9nmcAAAAA:0I6QVgdFwFVSRCkj7llxf1UHJlvu2PxeM9hrCjOlbbNcvnGeuKGDnCNvmrnucHwQn8ukQi4i7Q. Acesso em: 19 ago 2024.
- RIOUX, L.-E.; TURGEON, S. L.; BEAULIEU, Martin. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate polymers*, v. 69, n. 3, p. 530-537, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.01.009>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861707000495?casa_token=TlqSoSfF4DMAAAAAA:vk_rQ7-BQR9ZnYEW79x2Lq33-61VuGKiNhv_zGEJNZG1nnvmrtP-xc4qyAOURfhFKfh4T2vw0g. Acesso em: 19 ago 2024.
- RODRIGUES, Bruno Vinícius Manzolli. **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. São Paulo: Blucher, cap. 6, 2022, p 197 – 231. Nanofibras poliméricas eletrofiadas. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1148382>. Acesso em: 25 ago 2024.
- RODRÍGUEZ-FÉLIX, Francisco *et al.* Physicochemical, structural, mechanical and antioxidant properties of zein films incorporated with no-ultrafiltered and ultrafiltered betalains extract from the beetroot (*Beta vulgaris*) bagasse with potential application as active food packaging. *Journal of Food Engineering*, v. 334, p. 111153, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111153>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877422002072?casa_token=J4xFyz0QKfcAAAAA:i6xMSH1HV_bU3D223zd79oWmMsV1hR_R_W8-R9Qv0Hs7qqG_h0cDWA7AYQXg5ssTK7y41ysvg. Acesso em: 19 ago 2024.
- SANFELICE, R. C.; PAVINATTO, A.; CORRÊA, D. S. **Nanotecnologia Aplicada a Polímeros**. São Paulo: Editora Blucher, 2022.
- SANTOS, Carla *et al.* Preparation and characterization of polysaccharides/PVA blend nanofibrous membranes by electrospinning method. *Carbohydrate polymers*, v. 99, p. 584-592, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.008>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713008989?casa_token=wnSUdVHtxj8AAAAA:nqmEuxpaeJK_JTMoMCUZ1l6oQNuKgJO4_2u6e0MnWLpu6B0u2luGPEqVYjd9oBERp05vCmXH3Q. Acesso em: 23 ago 2024.
- SARAVANA, Periaswamy Sivagnanam *et al.* Subcritical water extraction of fucoidan from *Saccharina japonica*: Optimization, characterization and biological studies. *Journal of Applied Phycology*, v. 30, p. 579-590, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1245-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-017-1245-9>. Acesso em: 24 ago 2024.
- SENNI, Karim *et al.* Fucoidan a sulfated polysaccharide from brown algae is a potent modulator of connective tissue proteolysis. **Archives of Biochemistry and**

Biophysics, v. 445, n. 1, p. 56-64, 2006. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.11.001>. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000398610500456X?casa_token=jJpWsqR6O-AAAAAA:23sRyf_lvXRFpa9WYyInntSbQpLXYnXclfyQTpDSXVD16GxcX-G0hq_AOynvcGVlc9yuZCI2Bhk. Acesso em: 24 set 2024.

SHAHID, Muhammad *et al.* Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. **Chemosphere**, v. 178, p. 513-533, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138219>. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720317320?casa_token=PVJIKBwpwmIAAAA:SBA1BWRblzO_xXJOs-X3aV-EEUc2TEbAykB_ZCq0azj3xE1BabNqbhrTeFqHQ3MRKm2fGQZyaA. Acesso em: 25 ago 2024.

SHANMUGAPRIYA, Karuppusamy; KIM, Hyejin; KANG, Hyun Wook. Fucoidan-loaded hydrogels facilitates wound healing using photodynamic therapy by in vitro and in vivo evaluation. **Carbohydrate polymers**, v. 247, p. 116624, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116624>. Disponível:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861720307980?casa_token=6qckZIL59mQAAAAAA:g6X1QZc-2ctcXD2uco1COk6Wr7RMO4jgl7hcynoHT8C7K22-IPkxJ4PCejfMJ9yYkmBxpzG4wXs. Acesso em: 24 set 2024.

SHAYEGAN, Hossein; ALI, Gomaa AM; SAFARIFARD, Vahid. Recent progress in the removal of heavy metal ions from water using metal-organic frameworks. **ChemistrySelect**, v. 5, n. 1, p. 124-146, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.201904107>. Disponível em: https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/slct.201904107?casa_token=W7FDHse0-Q8AAAAAA:PHeQCNalavPn02kaQj9GIO-BgK39MPaPdMvtXgPcWigb6HI5OdPAbyR0CQEumB40KCC14eAciRG3DQ. Acesso em: 20 ago 2024.

SIDDIK, Muhammad AB *et al.* Seaweed and Seaweed-Based Functional Metabolites as Potential Modulators of Growth, Immune and Antioxidant Responses, and Gut Microbiota in Fish. **Antioxidants**, v. 12, n. 12, p. 2066, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12122066>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/12/2066>. Acesso em: 17 ago 2024.

STOCKERT, Juan C. *et al.* Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. **Acta histochemica**, v. 120, n. 3, p. 159-167, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.02.005>. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065128117304749?casa_token=CuWBzTU2jpoAAAAAA:ACnwbZl2TQW3FUV0_w4r2q16eR554_pLU_DR1bEaZGTWhF3S9XOC8TkunhWwtBlcBBKfG2crlIu. Acesso em: 24 ago 2024.

TAMMINA, Sai Kumar *et al.* Cytotoxicity study of Piper nigrum seed mediated synthesized SnO₂ nanoparticles towards colorectal (HCT116) and lung cancer (A549) cell lines. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 166, p. 158-168, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.11.017>. DOI:

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134416306698>. Acesso em: 25 ago 2024.

TANNA, Bhakti; MISHRA, Avinash. Nutraceutical potential of seaweed polysaccharides: Structure, bioactivity, safety, and toxicity. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 3, p. 817-831, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12441>. Disponível em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12441?casa_token=QSUDXi0EogEAAAAA%3AI4R_tLDN298kHAiltPyJHfiwRt1XmGSahBqjOUeHdmInlsu-PX43zI10XUrBitAMUWfzQMtgouXhJQ. Acesso em: 17 ago 2024.

TIYEK, Ismail *et al.* Influence of electrospinning parameters on the hydrophilicity of electrospun polycaprolactone nanofibres. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 19, n. 11, p. 7251-7260, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16605>. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/contentone/asp/jnn/2019/00000019/00000011/art00048>. Acesso em: 21 ago 2024.

TORRES, Sandro Junior Vessoni *et al.* Mechanical and water absorption properties and morphology of melt processed Zein/PVAI blends. **Polímeros**, v. 30, n. 4, p. e2020042, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms151222438>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/15/12/22438>. Acesso em: 19 ago 2024.

TORTORELLA, Silvia *et al.* Zein as a versatile biopolymer: Different shapes for different biomedical applications. **RSC advances**, v. 11, n. 62, p. 39004-39026, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1RA07424E>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2021/ra/d1ra07424e>. Acesso em: 25 set 2024.

URIBE, Elsa *et al.* Effect of drying methods on bioactive compounds, nutritional, antioxidant, and antidiabetic potential of brown alga *Durvillaea antarctica*. **Drying Technology**, v. 38, n. 14, p. 1915-1928, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1679830>. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373937.2019.1679830?casa_token=7EkYBxkND_4AAAAAA:C1srhlowGQt7PbA0ekWw7KM8mmdhMokSVy-JkqiwBpzvomWFHNhNaAS85raZypWT8Kp7rgDSUSIKcw. Acesso em: 21 ago 2024.

VAJRABHAYA, La-ongthong; KORSUWANNAWONG, Suwanna. Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using tetrazolium (MTT) and sulforhodamine B (SRB) assays. **Journal of analytical science and technology**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40543-018-0146-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s40543-018-0146-0>. Acesso em: 23 ago 2024.

VAN ROOIJEN, Merel A.; MENSINK, Ronald P. Palmitic acid versus stearic acid: Effects of interesterification and intakes on cardiometabolic risk markers—A systematic review. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 615, 2020. DOI:

<https://doi.org/10.3390/nu12030615>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/3/615>. Acesso em: 25 ago 2024.

VASEASHTA, Ashok; BÖLGEN, Nimet. **Electrospun nanofibers**. Cham: Springer, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-99958-2>. Acesso em: 20 ago 2024.

WAN, Peng *et al.* Ultrasonic extraction of polysaccharides from *Laminaria japonica* and their antioxidative and glycosidase inhibitory activities. **Journal of Ocean University of China**, v. 14, p. 651-662, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11802-015-2648-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11802-015-2648-3>. Acesso em: 17 ago 2024.

WANG, Yu *et al.* Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. **Marine Drugs**, v. 17, n. 3, p. 183, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/md17030183>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/3/183>. Acesso em: 17 ago 2024.

WANG, Kang *et al.* Superhydrophobic and photocatalytic synergistic Self-Cleaning ZnS coating. **Applied Surface Science**, v. 595, p. 153565, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.153565>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433222011175?casa_token=vUtbt3kddl8AAAAA:omISNPGTIA6-Lf59ama2LXqm1AfDUeyVX10hhtAMaSEnO9hHTkglix6kbW5k8o6PPkCS4udJGg. Acesso em: 19 ago 2024.

WATANABE, Yasuhiro; TATSUNO, Ichiro. Omega-3 polyunsaturated fatty acids focusing on eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in the prevention of cardiovascular diseases: a review of the state-of-the-art. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 14, n. 1, p. 79-93, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/17512433.2021.1863784>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17512433.2021.1863784>. Acesso em: 25 ago 2024.

WEHR, John D. Brown algae. **Freshwater Algae of North America**. Academic Press, 2015.

WEN, Yuxi *et al.* Opportunities and challenges of algal fucoidan for diabetes management. **Trends in Food Science & Technology**, v. 111, p. 628-641, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.028>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422442100220X?casa_token=Bxbq996Zhp4AAAAA:ggFRsqidcfohJoKwZmkprnkB4-F_-553JGXhZeVPFUYVHn3KV83WvkqEGcqB0AEIqcHI69yITw. Acesso em: 19 ago 2024.

WEN, Wenting *et al.* Fucoidan promotes angiogenesis and accelerates wound healing through AKT/Nrf2/HIF-1 α signalling pathway. **International Wound Journal**, v. 20, n. 9, p. 3606-3618, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/iwj.14239>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/iwj.14239>. Acesso em: 24 set 2024.

WRZOSEK, Małgorzata *et al.* Impact of fatty acids on obesity-associated diseases and radical weight reduction. **Obesity surgery**, p. 1-13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11695-021-05789-w>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11695-021-05789-w>. Acesso em: 25 ago 2024.

WU, Lei *et al.* A review about the development of fucoidan in antitumor activity: Progress and challenges. **Carbohydrate polymers**, v. 154, p. 96-111, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.005>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716309407?casa_token=Mj_V8B-kULKAAAAA:xu-1NrTKBH3ul0Q0R6JnjWdJmTol6hbIxODg5CESV2vFMmQahcYVbQj2Be0bYNkkm0AXjggJnA. Acesso em: 19 ago 2024.

WU, Yuehan *et al.* pH Effect on the Structure, Rheology, and Electrospinning of Maize Zein. **Foods**, v. 12, n. 7, p. 1395, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12071395>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/7/1395>. Acesso em: 25 ago 2024.

XUE, Jiajia *et al.* Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. **Chemical reviews**, v. 119, n. 8, p. 5298-5415, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00593>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.chemrev.8b00593>. Acesso em: 19 ago 2024.

XUE, Meilan *et al.* Effect of fucoidan on ethanol-induced liver injury and steatosis in mice and the underlying mechanism. **Food & Nutrition Research**, v. 65, 2021. DOI: <https://doi.org/10.29219/fnr.v65.5384>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8098649/>. Acesso em: 19 ago 2024.

YALCINKAYA, Fatma *et al.* Effect of nanofibrous membrane structures on the treatment of wastewater microfiltration. **Science of Advanced Materials**, v. 9, n. 5, p. 747-757, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1166/sam.2017.3027>. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/contentone/asp/sam/2017/00000009/00000005/art0008>. Acesso em: 21 ago 2024.

YAN, Xiaojia *et al.* Zein-based nano-delivery systems for encapsulation and protection of hydrophobic bioactives: A review. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 999373, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.999373>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/nutrition/articles/10.3389/fnut.2022.999373/full>. Acesso em: 25 set 2024.

YANG, Yingjie *et al.* Structural characterization and effect on leukopenia of fucoidan from Durvillaea antarctica. **Carbohydrate Polymers**, v. 256, p. 117529, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117529>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861720317021?casa_token=V1aOO6JNHM0AAAAA:q5ACp1KL3oWuUbTD9g9qM4OqBMEObiKKzIY4HrBnz-YYKjGMFqIT5Q2q8BUQV9CUE-WCp3DYNA. Acesso em: 24 ago 2024.

YOON, Jihyun *et al.* Recent progress in coaxial electrospinning: New parameters, various structures, and wide applications. **Advanced Materials**, v. 30, n. 42, p.

1704765, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.201704765>. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.201704765?casa_token=xlfn72kE77oAAAAA:jfPm3_juBDqfOM-Bsbc8hP9Ws2BQ241dcRJzgu2ksFK043bfmR4EvUlyrwPwTBBSmWqOypg3VBJ2Ww. Acesso em: 26 ago 2024.

YUAN, Yuan; MACQUARRIE, Duncan. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. **Carbohydrate polymers**, v. 129, p. 101-107, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.057>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715003732?casa_token=KRYzvrCeZDkAAAAA:UNrGGIYC4BSLagzmRkenxpKXr5a6ux2yf0xzFTM1A_SFIVhWnH5LvJX1X89v9JoWPjUTrwvPv_8. Acesso em: 17 ago 2024.

ZAAROUR, Bilal; ZHU, Lei; JIN, Xiangyu. A review on the secondary surface morphology of electrospun nanofibers: formation mechanisms, characterizations, and applications. **ChemistrySelect**, v. 5, n. 4, p. 1335-1348, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.201903981>. Disponível em: https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/slct.201903981?casa_token=WhYxoKQHIMwAAAAA:RlaDuE7zn4ompFJIC4xhGvCYhLUo3YjrvUyAmLinM8EErZ7MGLsfkSoXdmq2zfaKX0vCHHFB0loSvg. Acesso em: 20 ago 2024.

ZHAN, Fuchao *et al.* Facile in situ synthesis of silver nanoparticles on tannic acid/zein electrospun membranes and their antibacterial, catalytic and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127172, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127172>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620310347?casa_token=4CWtBnWYnvoAAAAA:Y313EGDnWI0adqRhEQfy51e58t4bx0Kw0bnR9_XI_n3nqYj1alQnwR79oURPHpffXaf9IQN5BA. Acesso em: 19 ago 2024.

ZHANG, Rui *et al.* Composition, isolation, purification and biological activities of *Sargassum fusiforme* polysaccharides: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 228, p. 115381, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101843>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429222003029?casa_token=Y0wDKSXJSJsMAAAA:qwaGh3NVb2FZrutulCNhllwhgigJT_4ag0FxDbWC9FXkNYcBqscEFvBilmdgpTm4S9SWvGYjpw. Acesso em: 19 ago 2024.

ZHANG, Weijie *et al.* Electrospinning of fucoidan/chitosan/poly (vinyl alcohol) scaffolds for vascular tissue engineering. **Fibers and Polymers**, v. 18, p. 922-932, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12221-017-1197-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12221-017-1197-3>. Acesso em: 24 ago 2024.

ZHANG, Xinming *et al.* A multifunctional janus electrospun nanofiber dressing with biofluid draining, monitoring, and antibacterial properties for wound healing. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 14, n. 11, p. 12984-13000, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.1c22629>. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsami.1c22629?casa_token=joyX6qYYcCAAAMAA%3A9Ln_46ncDgT5kOBGq5lTumIo5MJ2q7pCHMLjKiv89AVba82tun2_AhrOis-FQE_b7ascwEcZkA0GyUo. Acesso em: 19 ago 2024.

ZHAO, Yu *et al.* Fucoidan extracted from *Undaria pinnatifida*: Source for nutraceuticals/functional foods. **Marine drugs**, v. 16, n. 9, p. 321, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/md16090321>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/16/9/321>. Acesso em: 19 ago 2024.

ZOU, Huanhuan *et al.* Mutual effects of selenium and chromium on their removal by *Chlorella vulgaris* and associated toxicity. **Science of the Total Environment**, v. 724, p. 138219, 2020. DOI: Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.9b02061>. Acesso em: 25 ago 2024.

Anexos



29409162324749048

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**Número do Processo:** BR 10 2024 019292 3**Dados do Depositante (71)**

Depositante 1 de 1**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 92242080000100**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** Rua Gomes Carneiro, 01 - Ed. Delfim Mendes Silveira - Campus Porto/Reitoria - 4º Andar - PRPPG**Cidade:** Pelotas**Estado:** RS**CEP:** 96010-610**País:** Brasil**Telefone:** (53) 3284 4086**Fax:****Email:** epitte@ufpel.edu.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de FIBRAS ULTRAFINAS PRODUZIDAS COM FUCOIDANA E ZEÍNA

Utilidade (54): POR ELECTROSPINNING

Resumo: A presente invenção pertence à categoria A61K36/00 de acordo com a Classificação Internacional de Patentes e refere-se ao desenvolvimento de fibras ultrafinas a partir de soluções poliméricas de zeína adicionadas de fucoidana advindas de alga marrom por electrospinning. Foram produzidas soluções poliméricas de zeína 30% (p/v) e fucoidana (0%, 25%, 30% e 35%) em ácido fórmico 75%, as quais tiveram a condutividade elétrica e viscosidade analisadas. As fibras foram avaliadas quanto a estabilidade térmica, morfologia, distribuição de tamanho, molhabilidade e caracterização por espectroscopia no infra-vermelho por transformada de Fourier. A maior viscosidade das soluções foi com 25% e 30% de fucoidana e a condutividade elétrica não apresentou grande variação com o aumento da concentração de fucoidana. As fibras apresentaram morfologia de fita e diâmetro médio majoritariamente de 150 a 300 nm. A estabilidade térmica das fibras com 25 e 30% de fucoidana apresentaram menor perda de massa quando comparadas com a fibra controle contendo apenas zeína. As fibras apresentaram uma excelente característica hidrofílica, as quais podem ser úteis para a adesão e a proliferação celular.

Figura a publicar: 1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 19/09/2024 às 11:43, Petição 870240080079

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 8

Nome: CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA

CPF: 66734380025

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Av. Vinte e Cinco de Julho 755, casa 175, cond. Terra Nova

Cidade: Pelotas

Estado: RS

CEP: 96065-620

País: BRASIL

Telefone: (53) 981 168100

Fax:

Email: claudiochemistry@gmail.com

Inventor 2 de 8

Nome: AMANDA FONSECA LEITZKE

CPF: 04268470085

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Mestrando

Endereço: Rua Noemi Caringi, 32, Areal

Cidade: Pelotas

Estado: RS

CEP: 96080-582

País: BRASIL

Telefone: (53) 991 403251

Fax:

Email: amandafonsecaleitzke@gmail.com

Inventor 3 de 8

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 19/09/2024 às 11:43, Petição 870240080079

Nome: CRISTINA JANSEN ALVES
CPF: 01890718009
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Doutorando
Endereço: Avenida Pinheiro Machado 1412, casa 29, Fragata
Cidade: Pelotas
Estado: RS
CEP: 96040-500
País: BRASIL
Telefone: (53) 984 311079
Fax:
Email: cris-jansen@hotmail.com

Inventor 4 de 8

Nome: DANIELLE TAPIA BUENO
CPF: 02669347061
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Doutorando
Endereço: Rua Duque de Caxias 837
Cidade: São Lourenço do Sul
Estado: RS
CEP: 96170-000
País: BRASIL
Telefone: (53) 991 800891
Fax:
Email: danibueno693@gmail.com

Inventor 5 de 8

Nome: DAISA HAKBART BONEMANN
CPF: 02786556023
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Doutorando
Endereço: Estrada da Gama, 6181, nono distrito
Cidade: Pelotas
Estado: RS
CEP: 96115-000
País: BRASIL
Telefone: (53) 981 012210
Fax:
Email: daisabonemann@gmail.com

Inventor 6 de 8

Nome: ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE
CPF: 00344221024
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Professor do ensino superior
Endereço: Rua Doutor Oswaldo Branco de Araújo, 55, Bairro Areal
Cidade: Pelotas
Estado: RS
CEP: 96085-355
País: BRASIL
Telefone: (53) 984 063974
Fax:
Email: elessandrad@yahoo.com.br

Inventor 7 de 8

Nome: GABRIELLY QUARTIERI SEJANES
CPF: 03809551058
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Estudante de Graduação
Endereço: Cirilo Brandão Garcia, 702, Bairro Cassino
Cidade: Rio Grande
Estado: RS
CEP: 96208-400
País: BRASIL
Telefone: (53) 991 327912
Fax:
Email: gabrielly.q.sejanes@gmail.com

Inventor 8 de 8

Nome: FRANCIELI MORO STEFANELLO
CPF: 95954600015
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Professor do ensino superior
Endereço: Rua Gonçalves Chaves, 805, apto 902, Bairro Centro
Cidade: Pelotas
Estado: RS
CEP: 96015-560
País: BRASIL
Telefone: (53) 981 121244
Fax:
Email: fmstefanello@gmail.com

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	Comprovantre.pdf
Resumo	Resumo.pdf
Relatório Descritivo	Relatorio_descritivo.pdf
Reivindicação	Reivindicacoes.pdf
Desenho	Figuras.pdf
Procuração	Procuração UFPEL.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 19/09/2024 às 11:43, Petição 870240080079

**FIBRAS ULTRAFINAS PRODUZIDAS COM FUCOIDANA E ZEÍNA
POR ELECTROSPINNING**

RESUMO

A presente invenção pertence à categoria A61K36/00 de acordo com a Classificação Internacional de Patentes e refere-se ao desenvolvimento de fibras ultrafinas a partir de soluções poliméricas de zeína adicionadas de fucoidana advindas de alga marrom por *electrospinning*. Foram produzidas soluções poliméricas de zeína 30% (p/v) e fucoidana (0%, 25%, 30% e 35%) em ácido fórmico 75%, as quais tiveram a condutividade elétrica e viscosidade analisadas. As fibras foram avaliadas quanto a estabilidade térmica, morfologia, distribuição de tamanho, molhabilidade e caracterização por espectroscopia no infra-vermelho por transformada de Fourier. A maior viscosidade das soluções foi com 25% e 30% de fucoidana e a condutividade elétrica não apresentou grande variação com o aumento da concentração de fucoidana. As fibras apresentaram morfologia de fita e diâmetro médio majoritariamente de 150 a 300 nm. A estabilidade térmica das fibras com 25 e 30% de fucoidana apresentaram menor perda de massa quando comparadas com a fibra controle contendo apenas zeína. As fibras apresentaram uma excelente característica hidrofílica, as quais podem ser úteis para a adesão e a proliferação celular.

FIBRAS ULTRAFINAS PRODUZIDAS COM FUCOIDANA E ZEÍNA POR ELECTROSPINNING

RELATÓRIO DESCRIPTIVO

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de fibras ultrafinas com zeína adicionadas de fucoidana advindas de alga marrom pela técnica de *electrospinning*.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] As macroalgas marinhas, ou seja, as algas marinhas, são bem conhecidas há séculos por sua importância na dieta de muitos países do Extremo Oriente, como o Japão e a Coreia. Elas são nutricionalmente muito ricas, sendo consideradas uma grande fonte de polissacarídeos complexos, minerais, proteínas e vitaminas, bem como de vários fitoquímicos. Seu consumo está alinhado com a crescente conscientização das percepções dos consumidores em relação aos produtos orgânicos e aos produtos ambientalmente sustentáveis (Afonso et al., 2019).

[003] De acordo com o relatório da *Seafood Source*, espera-se que o mercado global de algas cresça para US\$ 22,1 bilhões até 2024. Atualmente, entre os três filos de macroalgas, algas verdes, do filo Chlorophyta; algas marrons, do filo Phaeophyta e algas vermelhas, do filo Rhodophyta, as algas marrons são as espécies mais consumidas (66,5%), seguidas pelas algas vermelhas (33%) e verdes (5%). As *Phaeophyceae* possuem um alto teor de diversos fitoquímicos e têm sido repetidamente reivindicadas por exercerem importantes propriedades terapêuticas, o que as torna grandes candidatas a serem usadas como agentes bioativos em muitos setores, inclusive no mercado de alimentos funcionais (Catarino, Silva e Cardoso, 2018).

[004] As algas marrons são uma fonte de polissacarídeos que podem apresentar várias respostas biológicas. Entre esses materiais de origem marinha, a fucoidana tem atraído grande interesse nos últimos anos, conforme citado pela patente WO2022101687A1. As fucoidanas são uma classe de polissacarídeos sulfatados de polifucose extraídos de algas marinhas marrons. Estas têm recebido grande interesse em pesquisas biotecnológicas devido aos seus efeitos antitumorais, imunomoduladores, antioxidantes, antivírus, anticoagulantes e anti-inflamatórios, bem como por serem um recurso comestível abundante de origem não animal e não tóxico. O mercado tem avaliado o valor da fucoidana com pureza $\geq 95\%$ em torno de US\$ 260,00 cada 500 mg (Sigma-Aldrich, 2024).

[005] As fucoidanas possivelmente interagem com uma variedade de fatores de crescimento, como o fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF) e o fator de crescimento transformador- β , por meio de mecanismos semelhantes aos da ligação à heparina, para mediar esses efeitos benéficos.

[006] A cicatrização de feridas dérmicas é um processo fisiológico que restaura a estrutura anatômica e a função da pele lesionada. A cicatrização de feridas ocorre por meio de três fases que se sobrepõem: fase inflamatória com hemostasia e inflamação; fase proliferativa com angiogênese, deposição de colágeno, formação de tecido de granulação e epitelização; e fase de remodelação com deposição de tecido conjuntivo. Isso envolve a interação de uma cascata complexa de várias células, incluindo leucócitos, células sanguíneas, fibroblastos e células epiteliais (Park et al., 2017).

[007] A maioria dos tratamentos convencionais para feridas dérmicas, como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e os corticosteroides tópicos, tem como objetivo reduzir a inflamação. No entanto, o tratamento pode ter um impacto negativo na cicatrização de feridas, incluindo efeitos

adversos como atrofia, osteoporose, obesidade e glaucoma.

[008] Para a medicina complementar e alternativa, muitas fontes naturais ricas em vários fatores nutricionais, incluindo proteínas, carboidratos e vitaminas, foram utilizadas para revelar a promoção da cicatrização de feridas, porque a restauração de tecidos dérmicos lesionados requer uma quantidade de energia.

[009] Além disso, suas atividades antioxidantes mostraram o potencial terapêutico desses recursos para a cicatrização de feridas. Sabe-se que os principais componentes dos extratos naturais, como flavonoides, fenóis e taninos, atuam como eliminadores de radicais livres. Isso levanta a intrigante possibilidade de usar recursos naturais para a cicatrização de feridas dérmicas.

[010] Nos últimos 20 anos, houve um aumento significativo no número de publicações no campo da eletrofiação e da eletrofiação para aplicações de cicatrização de feridas. Nos primórdios desta técnica, a eletrofiação era usada esporadicamente na fabricação de têxteis, mas na última década essa técnica se difundiu em aplicações médicas, especialmente no campo da engenharia de tecidos (Bombin et al., 2020).

[011] Conforme EP3040462B1, a eletrofiação por electrospinning é uma tecnologia que utiliza a força do campo eletrostático para produzir material de nanofibra, que tem sido pesquisada ampla e extensivamente em todo o país e no exterior nos últimos anos.

[012] Os tecidos/membranas não tecidos de nanofibra (membrana eletrofiada) preparados pela técnica de eletrofiação têm muitas propriedades excelentes, como a opção flexível de matéria-prima de polímero, a eletrofiação de solução e/ou fusão pode ser realizada dependendo dos diferentes tipos de matérias-primas; assim, a membrana eletrofiada obtida tem a vantagem de ter alta porosidade,

diâmetro de poro pequeno e uniformemente disperso, finura de fibra ajustável, espessura de membrana controlável, bem como isotropia, filtragem de alta eficiência e propriedade de alta barreira etc.

[013] Dessa forma, ela tem sido pesquisada ampla e extensivamente nos campos de filtragem industrial, separador de bateria de lítio, filme multifuncional e biomédico. Embora a eletrofiação de fibras tenha ocorrido pela primeira vez na década de 1930 (Pat. dos EUA nº 2.077.373) (1934), o processo só recentemente atraiu maior atenção devido à sua simplicidade na fabricação de nanofibras de polímeros sintéticos e naturais.

[014] Um polímero natural que tem sido bastante utilizado para eletrofiação de fibras é a zeína. A zeína, a principal proteína de armazenamento do milho (80% de seu conteúdo proteico), é uma prolamina (Corradini et al., 2020) que tem natureza anfifílica com propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Mais de 50% dos resíduos de aminoácidos na zeína são hidrofóbicos (Torres et al., 2020). A zeína tem boa solubilidade em soluções aquosas de álcool (60% a 95%), mas não é solúvel em água (Liu, Li e Deng, 2023). Esta proteína não é tóxica e é geralmente reconhecida como um polímero seguro que pode ser obtido de recursos renováveis (Kasaai, 2018).

[015] A zeína tem recebido muito interesse nos setores de alimentos e nutrição devido às suas vantagens, como abundância, biodegradabilidade, alta estabilidade térmica, hidrofobicia, barreira de oxigênio, boa elasticidade e boa capacidade de formação de fibras. As fibras eletrofiadas podem ser facilmente obtidas a partir de polímeros de zeína usando soluções contendo zeína (Rezazadeh et al., 2022).

[016] Com base nos estudos sobre a eficiência da zeína na encapsulação de compostos com atividade biológica através de nanofibras, e as diversas bioatividades apresentadas pelas

fucoidanas extraídas de algas marrons, foram desenvolvidas fibras ultrafinas a partir da solução polimérica de zeína e fucoidana para serem utilizadas como adesivo cicatrizante para pele.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[017] A **FIGURA 1** ilustra a análise termogravimétrica (TGA) da zeína, fucoidana e de fibras ultrafinas de zeína 30% com fucoidana (0%, 25% e 30% p/p).

[018] A **FIGURA 2** ilustra a derivada da análise termogravimétrica da zeína, fucoidana e de fibras ultrafinas de zeína 30% com fucoidana (0%, 25% e 30% p/p).

[019] A **FIGURA 3** ilustra as imagens do ângulo de contato das fibras ultrafinas com 30% de zeína contendo 0% (a-c), 25% (d-f) e 30% (g-i) de fucoidana. As imagens (a), (d), e (g) são referentes ao instante 0, (b), (e), e (h) são referentes à 30 segundos após a queda da gota e (c), (f) e (i) são referentes à 60 segundos após a queda da gota.

[020] A **FIGURA 4** ilustra as morfologias das fibras ultrafinas com 30% de zeína e sua respectiva distribuição de tamanho: fibra de zeína 30% e 0% de fucoidana (controle) (a-b), fibra de zeína 30% e com 25% de fucoidana(c-d) e fibra de zeína 30% e com 30% de fucoidana(e-f). Amplitude de 1000x.

[021] A **FIGURA 5** ilustra os espectros de IR-TF da zeína, fucoidana e das fibras com diferentes concentrações.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

Obtenção das fibras por electrospinning

[022] Primeiramente, para o preparo das formulações, foram preparadas soluções de fucoidana em porcentagens diferentes, juntamente com o polímero zeína em uma concentração constante de 30% (concentração mínima para formação de membrana). Após, a fucoidana e a zeína foram diluídas em uma solução de ácido fórmico 75% e mantidas em agitação até a solubilização completa do polímero, durante 3 horas. Para a produção da fibra controle (sem adição de fucoidana), foi preparada uma solução polimérica de zeína pura nas mesmas condições já descritas. Estas soluções foram mantidas sob agitação utilizando agitador magnético.

[023] Para a produção das fibras foi utilizada uma taxa de alimentação de 0,8 mL/h, diâmetro de agulha de 0,7 mm. As soluções poliméricas foram inseridas em seringas de 3 mL e uma bomba de infusão com seringa (KD Scientific, Model 100, Holliston, Inglaterra) para controle da taxa de fluxo da solução polimérica. O processo de eletrofiação foi realizado através da utilização de um eletrodo positivo, conectado a uma fonte de alta tensão com corrente contínua (INSTOR, INSES-HV30, Brasil), com uma tensão na faixa de 25 kV, ao qual possuía acoplado diretamente na ponta da agulha metálica na saída da seringa e um eletrodo negativo foi conectado a um alvo metálico coberto com folha de alumínio posicionado no sentido horizontal à bomba de infusão a uma distância de 20 a 23 cm da ponta da agulha até o alvo, para a deposição das fibras. As formulações das fibras estão descritas na **Tabela 1.**

TABELA 1. Fibras ultrafinas de zeína incorporadas com fucoidana.

Zeína (%)	Fucoidana (%)
30	0 (controle)
30	25
30	30
30	35

ANÁLISE DOS PRODUTOS OBTIDOS

Análise de condutividade elétrica das soluções poliméricas

[024] A condutividade elétrica das soluções poliméricas contendo zeína e fucoidana em diferentes concentrações foi avaliada através de um condutivímetro (Medidor EC150 de condutividade em $\mu\text{S}/\text{cm}$ & mS/cm). Aproximadamente 10 mL de cada solução foi analisada em temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$), sendo a análise realizada em triplicata.

[025] Na **Tabela 2** estão apresentados os resultados de condutividade elétrica para as diferentes formulações de zeína e de fucoidana. Os resultados foram se mantiveram constantes com a adição de fucoidana, exceto na concentração de 30% zeína + 30% fucoidana. A fibra com zeína 30% + fucoidana 30%, apresentou a maior condutividade, diferindo estatisticamente ($p<0,05$) das demais soluções.

TABELA 2. Condutividade elétrica das soluções poliméricas de 30% (p/v) de zeína com fucoidana (25, 30, e 35% p/p).

Tratamento	Condutividade ($\mu\text{s}/\text{cm}$)
Zeína 30% (controle)	$8,31 \pm 0,14^{\text{c}}$
Zeína 30% + 25% Fucoidana	$8,57 \pm 0,07^{\text{b}}$
Zeína 30% + 30% Fucoidana	$7,82 \pm 0,02^{\text{d}}$
Zeína 30% + 35% Fucoidana	$8,99 \pm 0,12^{\text{a}}$

Viscosidade aparente das soluções poliméricas e do óleo

[026] A viscosidade aparente das soluções poliméricas foi determinada em um viscosímetro digital marte modelo MDV-5 com spindle nº 0. Aproximadamente 10 mL de cada solução

polimérica (zeína e ácido fórmico 75%) e de fucoidana foram utilizados em cada medição em temperatura ambiente ($22 \pm 2 ^\circ\text{C}$), sendo realizadas em triplicata.

[027] A incorporação da fucoidana aumentou a viscosidade aparente das soluções poliméricas (**Tabela 3**). Com exceção da fibra contendo 30% zeína + 35% fucoidana, na qual houve uma viscosidade menor quando comparada às outras fibras, mas maior quando comparada ao controle contendo apenas zeína. As fibras com zeína 30% + fucoidana 25% e zeína 30% + fucoidana 30% apresentaram viscosidades semelhantes, possuindo médias não significativamente diferentes. Desta forma, ambas as fibras diferiram estatisticamente ($p<0,05$) das demais soluções.

TABELA 3. Viscosidade das soluções poliméricas de 30% (p/v) de zeína com fucoidana (25, 30, e 35% p/p).

Tratamento	Viscosidade (mPa/s)
Zeína 30% (controle)	$4,65 \pm 0,28^{\text{c}}$
Zeína 30% + 25% Fucoidana	$15,34 \pm 0,44^{\text{a}}$
Zeína 30% + 30% Fucoidana	$15,16 \pm 0,56^{\text{a}}$
Zeína 30% + 35% Fucoidana	$11,93 \pm 0,07^{\text{b}}$

[028] Segundo Angammana e Jayaram (2011), o processo de eletrofiação é regido por uma variedade de forças que incluem a força de Coulomb entre as partículas de carga na superfície do jato, a força eletrostática devido ao campo elétrico externo, força viscoelástica devido à viscosidade da solução viscoelástica devido à viscosidade da solução, força de tensão superficial, força da gravidade e força de força de arrasto devido ao atrito com o ar.

[029] Apesar da fibra zeína 30% + 35% fucoidana ter apresentado a maior condutividade quando comparadas as demais e uma viscosidade de $11,93 \pm 0,07$, não foi possível eletrofia-la. Desta forma, apenas os dados referentes aos demais tratamentos serão apresentados.

Análise termogravimétrica (TGA)

[030] As análises termogravimétricas das fibras e compostos puros foram realizadas em analisador termogravimétrico (SDT Q600, marca TA Instruments, modelo TA60, EUA). As amostras (cerca de 10 mg) foram aquecidas em cápsulas de platina entre 30 e 800 °C, sob fluxo contínuo de nitrogênio a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

[031] Na **Figura 1** estão apresentados os termogramas de TGA brutos. Verificou-se que a fucoidana apresentou uma perda de peso de aproximadamente 50% entre 251 e 316°C, após observou-se uma perda de 18% entre 527 e 613°C, por fim, estabilizou-se até a temperatura atingir 800°C. A zeína apresentou uma perda de peso de 66% entre 288 e 353 °C, posteriormente estabilizou-se até 800 °C.

[032] A fibra controle contendo apenas zeína apresentou uma perda de peso de 57% entre 290 e 340 °C e uma segunda perda de peso de 22% entre 577 e 657 °C. Enquanto que as fibras com 25 e 30% de fucoidana apresentaram comportamentos semelhantes. A fibra 30% zeína + 25% fucoidana apresentou uma perda de 50% entre 296 e 347 °C, enquanto que a fibra 30% zeína + 30% fucoidana apresentou uma perda de 51% entre 299 e 344 °C.

[033] A segunda perda de peso da fibra 30% zeína + 25% fucoidana foi de 28% e ocorreu entre 538 e 690 °C, enquanto que a da fibra 30% zeína + 30% fucoidana foi de 20% e ocorreu entre 603 e 721 °C. Com isso, é possível observar que o aumento da concentração de fucoidana aumentou a estabilidade térmica estabilidade térmica das fibras ultrafinas.

Análise de calorimetria de varredura diferencial (DSC)

[034] A análise térmica por DSC foi realizada para observar os pontos de transição térmica das fibras ultrafinas. Durante a análise, a faixa de temperatura foi configurada de 30 a

300 °C, numa faixa de temperatura de 10 °C.min⁻¹ com taxa de fluxo de nitrogênio de 50 ml/min.

[035] Os resultados da análise de DSC podem ser observados na **Figura 2**. Todas as curvas de DSC mostram picos endotérmicos na faixa de temperatura de 50 a 300°C. A transição de desnaturação da zeína foi observada como um pico endotérmico em 133 °C. Nessa faixa de temperatura também é verificada a quebra das ligações de hidrogênio que estão presentes na estrutura da zeína e em outras associações moleculares (Müller et al., 2010). Além disso, Mothe et al. (2005) atribuíram a presença de um pico endotérmico em termogramas de proteínas à desestabilização de suas interações físicas, como ligação de hidrogênio, interação eletrostática e interação dipolo-dipolo, causando assim a perda de estruturas tridimensionais das proteínas.

[036] De acordo com Anastasakis, Ross e Jones (2011), os dois picos endotérmicos da fucoidana pura nas temperaturas de 207,6 °C e 237,6 estão associados as principais reações de desvolatilização, em que a maior parte do peso da amostra é perdida como matéria volátil. Um pequeno pico exotérmico foi observado em 275 °C, sugerido como estando ligado à degradação que ocorre durante o processo de aquecimento. Os picos endotérmicos também foram observados nas fibras, mas em um ponto de fusão mais baixo. Em todas as fibras foram observados picos endotérmicos na faixa de temperatura de 160 a 179 °C e também entre 287 e 300 °C.

Ângulo de contato das fibras ultrafinas

[037] Os ângulos de contato das fibras ultrafinas de zeína com fucoidana estão apresentados na **Figura 3**. A molhabilidade das fibras ultrafinas foi analisada no momento inicial que a gota de água entra em contato com a fibra, após 30 e 60 segundos. Dentre os tratamentos estudados, foi observado que

a porcentagem de fucoidana presente na fibra influenciou na diminuição da hidrofilicidade.

[038] Na fibra ultrafina controle (30% zeína) é possível observar que houve uma diferença estatística significativa ($p<0,05$) nos 3 diferentes tempos analisados (0, 30 e 60 segundos). Enquanto que nas fibras com 30% zeína + 25% fucoidana e 30% zeína + 30% fucoidana, não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) nos tempos de 30 e 60 segundos. O maior ângulo de contato encontrado foi do tratamento da fibra controle com 30% de zeína, apresentando um valor inicial de $60,69^\circ$ (Tabela 4), mas também foi a que apresentou o menor valor final, sendo de $12,42^\circ$, sendo este o mais hidrofílico.

[039] Após 60 segundos de contato com a fibra, observou-se redução da hidrofilicidade para as fibras que continham fucoidana nas concentrações de 25% e 30%. Entretanto, apesar da diminuição, as mesmas ainda apresentaram caráter hidrofílico. Desta forma, os resultados demonstraram que as nanofibras apresentaram uma excelente característica hidrofílica, os quais podem ser úteis para a adesão e a proliferação celular (Wang et al., 2017).

TABELA 4. Ângulo de contato das fibras ultrafinas de zeína com diferentes concentrações de fucoidana após 0, 30 e 60 segundos de contato da membrana com a água.

Fibras	Ângulo de contato (°)		
	Tempo de contato (s)		
	0	30	60
Zeína 30% (controle)	$60,69 \pm 0,69^a$	$18,14 \pm 4,30^b$	$12,42 \pm 2,88^c$
Zeína 30% + 25% Fucoidana	$57,13 \pm 3,09^a$	$32,87 \pm 4,08^b$	$32,41 \pm 3,91^b$
Zeína 30% + 30% Fucoidana	$51,61 \pm 3,24^a$	$33,56 \pm 3,48^b$	$32,53 \pm 3,54^b$

Morfologia e distribuição de tamanho das fibras

[040] A morfologia das fibras obtidas foi avaliada por meio de microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Jeol, JSM - 6610LV, EUA). Um pedaço do alumínio contendo as fibras foi fixada em stub, por meio de fita dupla-face e, recoberta com ouro por meio de um metalizador (Sputtering, Denton Vacuum Desk V, EUA). A análise foi realizada com uma aceleração de tensão de 10 kV. O diâmetro médio e a distribuição do tamanho das fibras foram analisadas a partir da medição aleatória de 90 fibras por meio do software ImageJ (versão 2015, EUA), através das imagens obtidas do MEV.

[041] As morfologias e os diâmetros médios das fibras de zeína controle, a incorporada com 25% fucoidana e a incorporada com 30% fucoidana estão apresentadas na **Figura 4**. Em relação a morfologia, as fibras ultrafinas incorporadas com 25% e 30% fucoidana apresentaram formato de fita, com tamanho médio de 234 ± 54 nm e 276 ± 54 nm, respectivamente, e sem a presença de beads. Esse resultado pode estar relacionado ao aumento da viscosidade da solução polimérica, que gerou um jato mais uniforme e, consequentemente, fibras mais homogêneas (Neo et al., 2012).

[042] A fibra controle apresentou a presença de partículas no formato de cápsulas, com distribuição de tamanho amplamente disperso, com tamanho médio de 540 ± 130 . Desta forma, é possível observar que a adição de fucoidana na solução polimérica de 30% zeína em ácido fórmico 75% foi capaz de propiciar a formação de fibras em forma de fita e com uma distribuição de tamanho menor.

Espectroscopia no infra-vermelho por transformada de Fourier (IR-TF)

[043] A análise de IR-TF das fibras e compostos puros foi realizada em um espectrômetro na região do infravermelho com

transformada de Fourier (FTIR), Shimadzu, modelo SPIRIT, combinado com Reflectância Total Atenuada (ATR). Foram realizadas varreduras na faixa espectral de 400 a 4000 cm⁻¹ a uma resolução de 4 cm⁻¹ e 45 scans.

[044] Os espectros de IR-TF dos materiais de partida e das fibras podem ser observados na **Figura 5**. O espectro da zeína apresentou bandas características correspondentes à amida I, II e III em 1642 (alongamento de C=O), 1526 (flexão de N-H e alongamento de C-N) e 1224 cm⁻¹, respectivamente. Além disso, o pico em 3308 cm⁻¹ corresponde ao estiramento de -NH₂ na Zeína (Ali et al., 2014). O espectro da fucoidana apresentou bandas entre as regiões de 3500 cm⁻¹ e 2900 cm⁻¹, a primeira indicando uma ligação O-H e segunda referente a uma ligação C-H.

[046] Outra banda pode ser observada, na região de 1600 cm⁻¹ indicando grupos carbonila relacionados ao ácido urônico. Também, a banda entre 1220-1230 cm⁻¹ é atribuída ao S=O sugerindo a presença de sulfato. A banda entre 1000-1100 cm⁻¹ representa a ligação C-O dos polissacarídeos (Yuan e Macquarrie, 2015). Por fim, observa-se uma banda de absorção em torno de 840 cm⁻¹ devido a uma flexão de C-O-S (Chen et al., 2021).

[047] Foi possível observar bandas referentes a ambos compostos na fibra 30% zeína + 25% fucoidana e na fibra 30% zeína + 25% fucoidana. Na fibra controle com 30% de zeína foi possível observar bandas referentes a mesma.

Referencial teórico:

AFONSO, Nuno C. et al. Brown macroalgae as valuable food ingredients. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, p. 365, 2019.

ALI, Shamshad et al. Zein/cellulose acetate hybrid nanofibers: Electrospinning and

characterization. **Macromolecular Research**, v. 22, p. 971-977, 2014.

ANASTASAKIS, K.; ROSS, A. B.; JONES, J. M. Pyrolysis behaviour of the main carbohydrates of brown macro-algae. **Fuel**, v. 90, n. 2, p. 598-607, 2011.

ANGAMMANA, Chitral J.; JAYARAM, Shesha H. Analysis of the effects of solution conductivity on electrospinning process and fiber morphology. **IEEE Transactions on industry applications**, v. 47, n. 3, p. 1109-1117, 2011.

BOMBIN, Adrian D. Juncos; DUNNE, Nicholas J.; MCCARTHY, Helen O. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 114, p. 110994, 2020.

CATARINO, Marcelo D.; SILVA, Artur M. S.; CARDOSO, Susana M. Phycochemical constituents and biological activities of *Fucus* spp. **Marine drugs**, v. 16, n. 8, p. 249, 2018.

CHEN, Yiwen et al. Preparation of fucoidan-based electrospun nanofibers and their interaction with endothelial cells. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 739209, 2021.

CORRADINI, Elisângela et al. Recent advances in food-packing, pharmaceutical and biomedical applications of zein and zein-based materials. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 12, p. 22438-22470, 2014.

EP3040462B1. Depositante: Wuhan Textile University. Publicação: 06 jun. 2016. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/EP3040462B1/en?oq=EP3040462B1>. Acesso em: 01 jun. 2024.

KASAAI, Mohammad Reza. Zein and zein-based nano-materials for food and nutrition applications: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 184-197, 2018.

LIU, Guijin *et al.* Zein-based nanoparticles: Preparation, characterization, and pharmaceutical application. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1120251, 2023.

MOTHÉ, Cheila G.; DAMICO, Aline; MACHADO, Maria da Glória S. Estudo termoanalítico, CLAE e fracionamento físico e químico do subproduto industrial do milho. **Food Science and Technology**, v. 25, p. 1-7, 2005.

MÜLLER, Vinícius *et al.* Preparation and characterization of zein and zein-chitosan microspheres with great prospective of application in controlled drug release. **Journal of nanomaterials**, v. 2011, n. 1, p. 928728, 2011.

NEO, Yun Ping *et al.* Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 4, p. 645-651, 2012.

PARK, Jun-Hyeong *et al.* Promoting wound healing using low molecular weight fucoidan in a full-thickness dermal excision rat model. **Marine Drugs**, v. 15, n. 4, p. 112, 2017.

REZAZADEH, Aida *et al.* Capsaicin-incorporated zein electrospun nanofibers: Characterization and release behavior. **Food Bioscience**, v. 49, p. 101843, 2022.

Sigma-Aldrich. Disponível em:
<https://www.sigmadralich.com/BR/pt/product/sigma/f8190>.
Acesso em: 10 jun. 2024.

TORRES, Sandro Junior Vessoni *et al.* Mechanical and water absorption properties and morphology of melt processed Zein/PVAL blends. **Polímeros**, v. 30, n. 4, p. e2020042, 2020.

WO2022101687A1. **Nanofiber mesh comprising fucoidan, method and uses thereof.** Depositante: Application filed by Association For The Advancement Of Tissue Engineering And Cell Based Technologies & Therapies (A4Tec) - Associação.

Publicação: 19 maio 2022. Disponível em:
<https://patents.google.com/patent/WO2022101687A1/en?oq=WO2022101687A1>. Acesso em: 01 jun. 2024.

YUAN, Yuan; MACQUARRIE, Duncan. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. **Carbohydrate polymers**, v. 129, p. 101-107, 2015.

REIVINDICAÇÕES

- 1.** Uma formulação de preparo de fibras com zeína, **caracterizada por:** (1) Diluir a zeína (30% p/v) em ácido fórmico:água 75:25 (v/v); (2) adicionar a fucoidana (25, 30 e 35% (p/p); (3) produção de fibras ultrafinas por eletrofiação.
- 2.** Fibra **de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por** morfologia em fita na faixa de 229 a 340nm, sendo considerada uma fibra ultrafina.
- 3.** Fibra ultrafina **de acordo com as reivindicações 1, 2, caracterizada por conter 25 a 30%** de fucoidana apresentam hidrofilicidade de 30° quando em contato com a água.
- 4.** Fibra ultrafina **de acordo com a reivindicação 1, 2 e 3, caracterizada por apresentar estabilidade térmica em altas temperaturas,** definida por análise termogravimétrica.

FIGURAS

Figura 1.

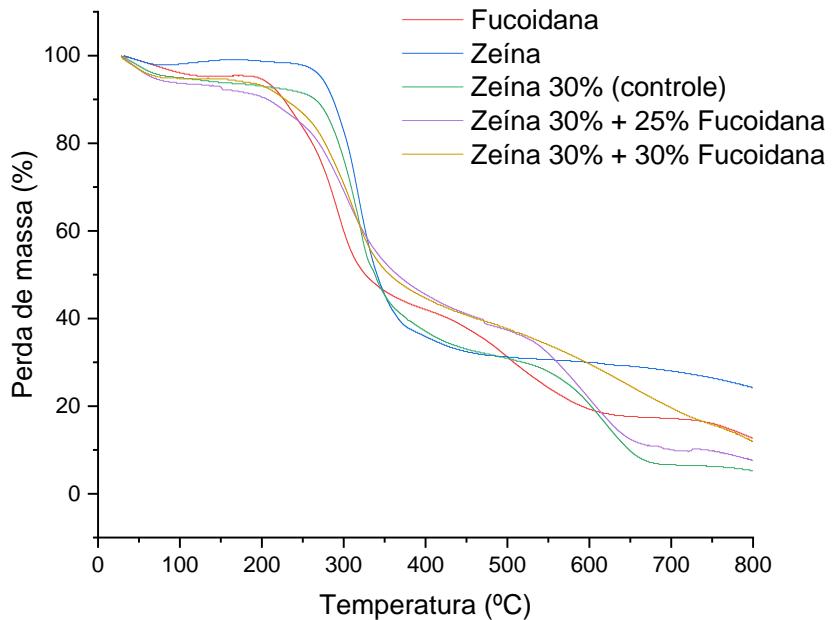


Figura 2.

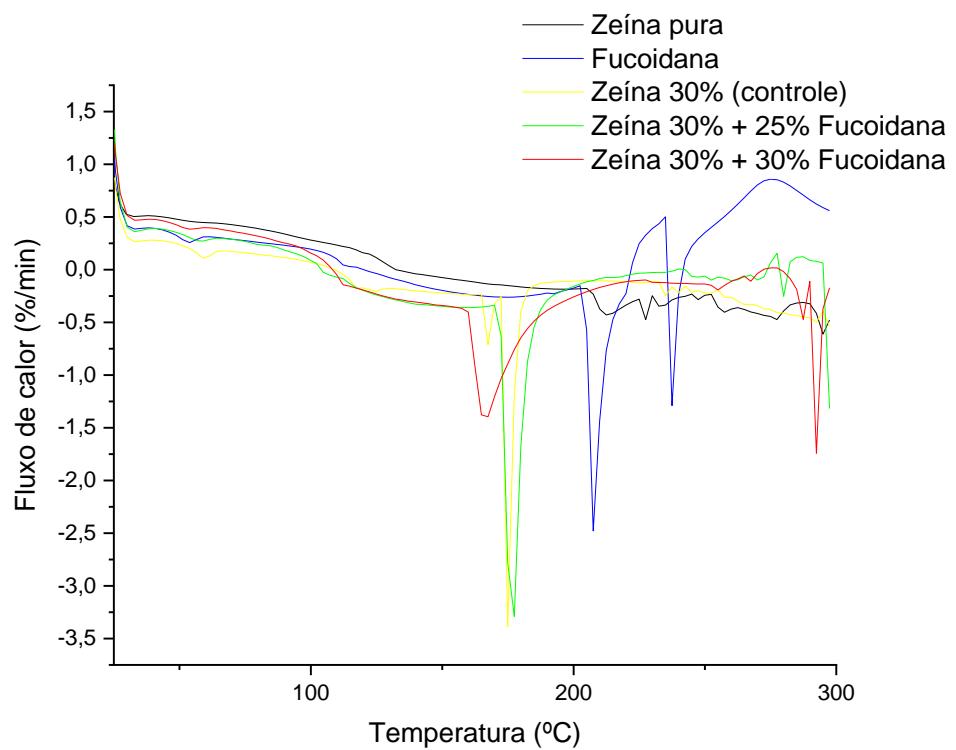


Figura 3.

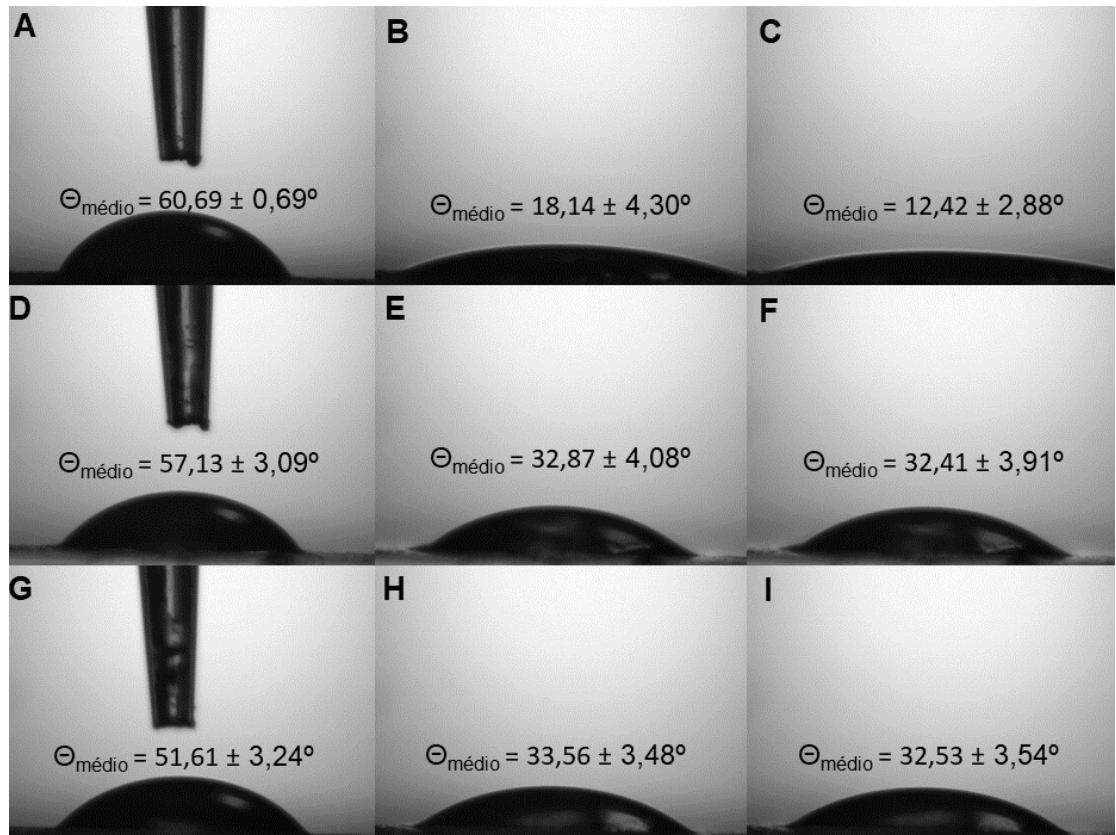


Figura 4.

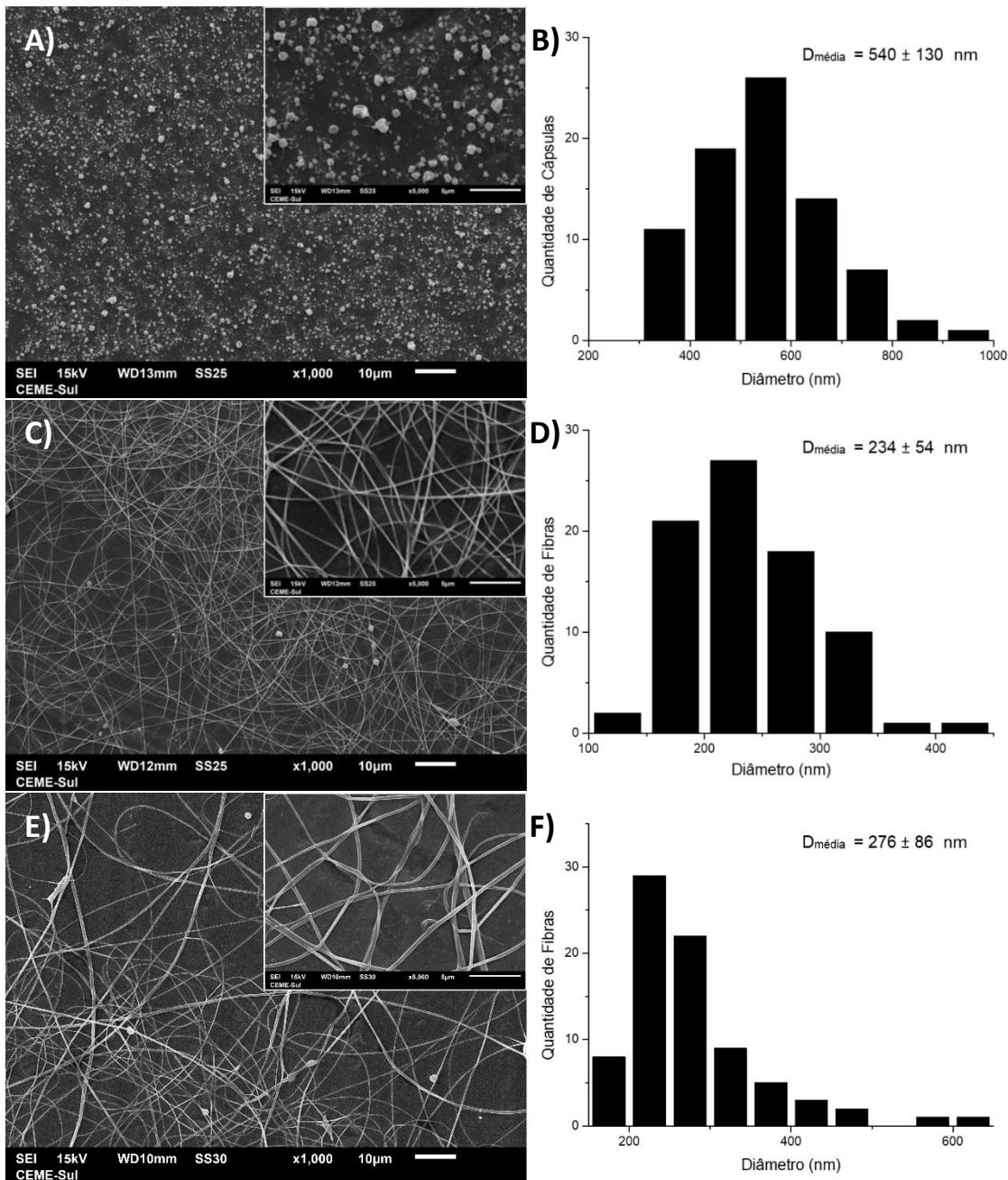


Figura 5.

